

## 리그닌의 분해가 우수한 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27과 *Streptomyces violaceusinger* C1-6에서 생성되는 효소들에 관한 연구

서울보건대학 임상병리과

김 태 전

### The Study of Enzymes Produced by *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27 and *Streptomyces violaceusinger* C1-6 Which Have Good Lignolytic Activity

Tai-Jeon Kim

Department of Biomedical Laboratory Science, Seoul Health College, Sungnam 461-713, Korea

This study was done to know a kind and change (transition) of enzymes produced by *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27 and *Streptomyces violaceusinger* C1-6 which showed good lignolytic activity and a good decolorization ratio of remazol brilliant blue R(RBBR) dye. These strains were isolated from soil and identified by the author. The basal medium containing 0.2% glucose was used to measure enzyme activity. Lignin peroxidase 1 (Lip 1) was measured by the methods of Choi, and Bourbonnais and Paice. Lignin peroxidase 2 (Lip 2) was measured by the methods of Ishida et al and Ramachandra et al using 2,4-dichlorophenol(2,4-DCP), manganese peroxidase(Mnp), veratryl alcohol oxidase (VAO), and laccase. They were measured by each of the methods of Choi and Paszczynski et al, and Bourbonnais and Paice, and De Jong et al. In the results, the kind of enzymes produced by *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27 were Lip 1, Lip 2, VAO, and laccase, and their activities indicated the highest value as each 4.95 nmol/mg protein,  $8.45(\times 10^{-3})$  unit, 10.25 nmol/mg protein, 9.20 nmol/mg protein on the sixth day of the culture and decreased gradually over time. The kind of enzymes produced by *Streptomyces violaceusinger* C1-6 were Lip 1, Lip 2, Mnp, VAO, and laccase, and their activities indicated the highest value as each 4.90 nmol/mg protein,  $13.85(\times 10^{-3})$  unit, 3.10 nmol/mg protein, 11.30 nmol/mg protein, 4.45 nmol/mg protein on the sixth day of the culture and decreased gradually over time. Consequently, the author knew the fact that there were few differences in the kind and quantity of enzymes produced by the two *Streptomyces* strains, but all enzyme activities indicated the highest value on the sixth day of the culture and decreased gradually over time.

---

**Key Words** : *Streptomyces*, lignolytic activity, Lignin peroxidase 1, Lignin peroxidase 2, Manganese peroxidase, Veratryl alcohol oxidase, Laccase

---

교신저자 : 김태전, (우) 461-713 경기도 성남시 수정구 양지동  
212 서울보건대학 임상병리과  
Tel : 031-740-7154, HP : 011-9777-0207  
E-mail : taijeon@shjc.ac.kr

## I. 서 론

유기화합물의 불완전 연소나 석탄을 액화 또는 기화하는 과정에서 발생하여 공기, 토양, 담수 및 해수 등에서 광범위하게 발견되는 난분해성 오염물질인 여러 고리 방향족 탄화수소 화합물(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)은 대부분이 발암물질이며 돌연변이의 원인이 되고, 독소가 있어 인간의 생명에 치명적이기 때문에 이러한 물질들의 분포와 환경영향에 대해 관심이 증가되고 있다(임, 2003). 일반적으로 PAHs 화합물이 오염된 지역에서 이들의 독성을 제거하거나, 오염원을 물리 화학적으로 제거하는 데에는 많은 비용이 들기 때문에 미생물을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있으며(Wilson과 Jones, 1993), 이러한 연구의 검색물질로 이용되고 있는 것의 하나가 셀룰로오스와 함께 식물체를 구성하고 있는 리그닌(Ligin) 물질이다. 이는 생물권에서 가장 풍부한 방향족 화합물의 하나로서 복잡한 화학적 구조에 의해 물리화학적적으로 매우 안전성이 있는 난분해성 물질이다(최, 1995). 이러한 리그닌들은 대부분 목재에 서식하는 담자균류인 백색부후균에 의해 가장 완벽하게 분해되는 것으로 알려져 있으나(Cripps 등, 1990; Glenn과 Gold, 1983), 최근에는 몇몇 방선균들에서도 리그닌과 셀룰로오스를 분해할 수 있다는 사실이 알려져 있다(Crawford, 1978; 김, 1995)

본 저자는 토양에서 분리된 방선균들 중 리그닌과 셀룰로오스를 분해할 수 있는 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-36과 *Streptomyces lavendulus* SA2-14를 분리 동정하고, 대조구인 *Streptomyces badius* ATCC 39117와 함께 리그닌의 분해능과 Remazol brilliant blue R(RBBR) 염료의 탈색률을 최대로 하는 기초배지조성을 조사 발표한 바 있고(김, 1995; 김 등, 1997), 나아가 이 배지와 균주를 이용하여 azo계 염료들, heterocyclic계 염료들, triphenylmethane계 염료들의 탈색률과 PAHs 화합물들의 분해능을 조사한 결과 방선균에 의한 여러 난분해성에 염료, 페놀화합물 및 다핵방향족탄화수소의 화합물들의 분해가 가능함을 시사한 바 있다(윤 등, 1998; 김 등, 1998; 김과 윤, 1999; 김, 2000; 김 등, 2002).

본 연구는 이 기초배지를 이용하여 본 저자에 의해 분리 동정되고, 리그닌의 분해능과 Remazol brilliant blue R(RBBR) 염료의 탈색률이 양호한 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27과 *Streptomyces violaceusinger* C1-6이 생성하는 효소들의 종류와 활성도 추이를 알아보 고자 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 균주

리그노셀룰로오스와 리그닌의 분해능이 양호한 균주로 토양에서 분리 동정된 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27과 *Streptomyces violaceusinger* C1-6, 그리고 대조로 *Streptomyces badius* ATCC 39117를 이용하였다(김, 1996).

### 2. 기본배지의 제조

효소활성도를 조사하기 위하여 Remazol brilliant blue R(RBBR) 염료의 분해능을 최대로 하는 포도당의 농도를 0.2%로 하는 변형된 김(1996)과 Maria 등(1990)의 기본배지를 사용하였다(Table 1).

Table 1. The ingredients of modified basal medium.

Media	Ingradients	
Modified basal medium	0.5 M Tris buffer	100 mL
	D-Glucose	2 g
	Casamino acid	1 g
	Thiamin	100 mg
	Biotin	100 µg
	DW	900 mL
	pH	7.6

### 3. 세포외 효소활성도 측정

#### 1) 조효소(crude enzyme)의 조제

기본배지에 균주를 접종하여 30℃에서 진탕배양(100 rpm)하면서 3일 간격으로 배양액을 채취하여 4℃에서 5분간 원심분리(5000 rpm)하여 얻어진 상층액을 조효소(crude enzyme) 측정시료로 사용하였다.

#### 2) 활성도 측정

효소활성도 측정은 RBBR 염료 탈색 시 사용하였던 분광광도계를 이용하여 30℃에서 실시하였다. 조효소(crude enzyme)의 총 단백질량은 bovine serum albumin(Sigma chem. Co., USA)을 표준물질로 사용하여 Bradford 방법으로 측정하였고, 효소 1단위는 0.01 µg/0.1 mL에서 1분 동안 1 µmole의 기질을 변화시키는 효소량으로 정의하였다.

(1) Lignin peroxidase 1(Lip 1)과 lignin peroxidase 2(Lip 2) 측정

알코올은 310 nm서 흡수되지 않으나 veratraldehyde는 강하게 흡수된다. 이 성질을 이용하여 김(1996), 그리고 Tien과 Kirk(1988) 방법에 따라 2.0 mM veratryl alcohol 200  $\mu$ L, 50 mM sodium tartrate(pH 2.5) 200  $\mu$ L, 배양액 520  $\mu$ L를 혼합하여 1분간 반응시킨 후 310 nm서 흡광도를 측정하여 veratryl alcohol oxidase(VAO)의 총 활성도를 구한 다음 4.0 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80  $\mu$ L를 가한 즉시 310 nm서 1분간 효소활성도를 측정하였다. Veratryl alcohol은 veratryl alcohol oxidase(VAO)의 활성에 의해서도 veratraldehyde로 산화되므로 총 효소활성도에서 VAO의 활성도를 제한 것을 순수한 Lip 1로 산정하였다( $\epsilon_{310nm}$  9300M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>)(최, 1995; Bourbonnais와 Paice, 1988).

Lip 2은 2,4-dichlorophenol(2,4-DCP)을 사용하는 Ishida 등(1987)과 Ramachandra 등(1987)의 방법을 이용하여 활성도를 측정하였다. 반응액은 100 mM sodium succinate 완충액(pH 5.5) 200  $\mu$ L, 82 mM 4-aminoantipyrine(Sigma chem. Co., USA) 220  $\mu$ L, 1.0 mM 2,4-DCP 400  $\mu$ L과 4.0 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80  $\mu$ L에 배양액 100  $\mu$ L를 가하여 최종량이 1 ml 되게 하였다. 반응은 30°C에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 반응 혼합액에 가해지는 즉시 510 nm에서 2분간 흡광도를 검색하여 최고치의 흡광도에서 최저치의 흡광도를 뺀 흡광도 값을 peroxidase 검량선(Fig. 1)에 적용시켜 실질적인 peroxidase의 역가로 표시하였다.

(2) Manganese peroxidase (Mnp) 측정

Mnp는 최(1995)와 Paszczynski 등(1988)의 방법에 따라 50 mM sodium malonate(pH 4.5) 200  $\mu$ L, 1.0 mM 2,6-dimethoxyphenol(DMP, Aldrich chemicals Co., USA) 100  $\mu$ L, 1.0 mM MnSO<sub>4</sub> 100  $\mu$ L가 혼합된 반응액에 배양액 520  $\mu$ L를 혼합하고 1분 후 568 nm에서 흡광도를 측정하여 총 효소활성도를 구한 후 0.4 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80  $\mu$ L를 가한 즉시 568 nm에서 1분간 Mnp의 효소활성도를 측정하였다. 고농도의 laccase도 DMP를 기질로 이용하므로 총 효소활성도에서 laccase의 활성도를 제한 것을 순수한 Mnp의 활성도로 산정하였다( $\epsilon_{568nm}$  ca 10,000M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>).

(3) Veratryl alcohol oxidase (VAO)측정

최(1995), 그리고 Bourbonnais와 Paice(1988)의 방법에 따라 50 mM dimethylsuccinate(DMS, pH 4.5, Sigma chem. Co., USA) 200  $\mu$ L와 2.0 mM veratryl alcohol

(Aldrich chemicals Co., USA) 200  $\mu$ L 그리고 520  $\mu$ L의 배양액을 혼합하여 총 1 ml의 반응액을 만들었으며 이 반응액으로 310 nm에서 1분간 효소활성도를 측정하였다. 측정원리는 Lip 1의 활성도 측정과 동일하다( $\epsilon_{310nm}$  9300M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>).

(4) Laccase 측정

Laccase는 최(1995)와 De Jong 등(1992)의 방법에 따라 50 mM DMS(pH 4.5) 200  $\mu$ L, 1.0 mM DMP 100  $\mu$ L가 혼합된 반응액에 배양액 750  $\mu$ L를 가하여 총 1 ml가 되게 한 후 1분간 반응시켰다. 반응 후 468 nm서 흡광도를 측정하였다( $\epsilon_{468nm}$  10,000M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>).

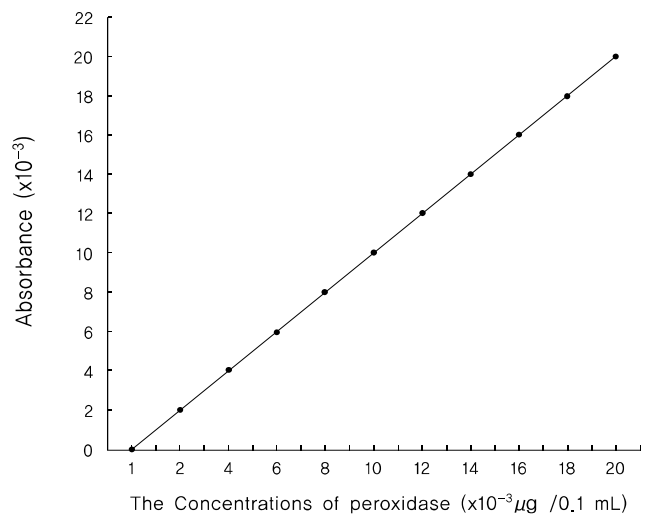


Fig. 1. Peroxidase(Type II, horseradish) standard curve for detection of Lip 2.

### III. 결 과

1. *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27의 효소활성도

*Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27 균주에 의해 생성되는 효소들에는 표 2에 나타난 바와 같은 Lip 1, Lip 2, VAO, laccase와 같은 효소들이지만, Mnp 효소는 전혀 생산되지 않는 것으로 나타났다. Lip 1, Lip 2, VAO, laccase와 같은 효소들의 활성도는 배양 6일째 각각 4.95 nmol/mg. protein, 8.45(×10<sup>-3</sup>) unit, 10.25 nmol/mg. protein, 9.20 nmol/mg. protein으로 최고치를 보였으며, 그 이후부터는 모든 효소들의 활성도가 서서히 감소됨을 보였다(Table 2와 Fig. 2-1).

## 2. *Streptomyces violaceusinger* C1-6의 효소활성도

*Streptomyces violaceusinger* C1-6 균주의 효소활성도는 Table 2와 같이 Lip 1, Lip 2, Mnp, VAO, laccase 모두 배양 6일째에 각각 4.90 nmol/mg. protein, 13.85( $\times 10^{-3}$ ) unit, 3.10 nmol/mg. protein, 11.30 nmol/mg. protein, 4.45 nmol/mg. protein로 최고치를 나타내었다. 그리고 그 이후부터는 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27과 똑 같이 서서히 감소됨을 보였다(Table 2와 Fig. 2-2).

## 3. *Streptomyces badius* ATCC 39117의 효소활성도

대조구인 *Streptomyces badius* ATCC 39117의 효소활성도는 Table 2와 같다. 이를 위 두 균주들과 비교할 때 Mnp을 생산하지 않는 것은 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27과 같았다. Lip 1, Lip 2, VAO, laccase는 배양 6일째 각각 5.97 nmol/mg. protein, 8.55( $\times 10^{-3}$ )unit, 11.94 nmol/mg. protein, 5.56 nmol mg/mg. protein로 최고치를 나타냈으며, 그 이후부터 감소되는 현상은 위의 두 균주와 같은 양상을 보였다(Table 2와 Fig. 2-3).

## IV. 고 찰

리그닌(lignin)은 불규칙한 구조를 갖는 방향족 이형중합체(aromatic heteropolymer)로 분자량이 매우 크고 목재(woody tissue)에서 풍부하게 발견된다. 이들은 phenylpropanoid 단위로 구성되어 있으며 셀룰로오스(cellulose)에 둘러싸여 있어 목재조직을 견고하게 하고 각종 미생물의 공격에 강력히 대항할 뿐 아니라 화학적, 생물학적으로도 쉽게 분해되지 않는 물질이다(임, 2003). 이러한 리그닌의 분해기전은 최근 소수의 미생물에 의해 밝혀지고 있지만 대부분이 목재를 부패시키는 미생물은 백색부후균(white rot fungi)들로 확인되고 있다. 특히 목재 백색부후균류의 리그닌 분해에는 몇 가지 세포외 산화 환원 효소와 저분자의 대사산물 그리고 활성화된 산소가 포함된 비특이적 산화계(nonspecific oxidation system)가 리그닌 분해에 관여하는 것으로 알려져 있고, 목재 백색부후균류가 리그닌을 분해하고 다양한 방향족 오염물질을 분해하는 기전도 이러한 비특이적인 산화계에 기인하는 것으로 알려져 있다(Schomaker, 1990). 그밖에 *Streptomyces* 등의 방선균류와 *Pseudomonas*, *Corynebacterium* 등의 세

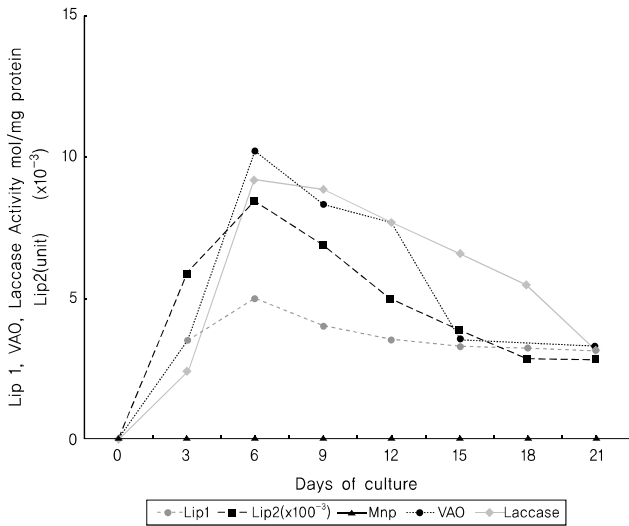
**Table 2.** The activities of various enzymes produced by *S. halstedii* ssp. *scabies* SA1-27, *S. violaceusinger* C1-6 and *S. badius* ATCC 39117 in modified basal medium.

Strains*	Enzymes(unit) <sup>†</sup>	Days <sup>‡</sup>						
		3	6	9	12	15	18	21
<i>S. halstedii</i> ssp. <i>scabis</i> SA1-27	Lip 1(nmol/mg. protein)	3.52	4.95	4.01	3.50	3.31	3.21	3.15
	Lip 2( $\times 10^{-3}$ , Unit )	5.85	8.45	6.85	4.95	3.85	2.85	2.85
	Mnp(nmol/mg. protein)	0	0	0	0	0	0	0
	VAO(nmol/mg. protein)	3.50	10.25	8.30	7.60	3.54	3.40	3.30
	Laccase(nmol/mg. protein)	2.40	9.20	8.85	7.70	6.57	5.45	3.13
<i>S. violaceusinger</i> C1-6	Lip 1	1.50	4.90	358	3.41	3.30	2.50	2.01
	Lip 2( $\times 10^{-3}$ )	11.80	13.85	12.75	8.35	5.65	2.55	2.35
	Mnp	1.05	3.10	1.50	1.47	1.36	1.27	1.26
	VAO	7.80	11.30	10.03	8.17	6.05	4.50	3.55
	Laccase	3.35	4.45	2.85	2.35	2.25	2.27	2.25
<i>S. badius</i> ATCC 39117	Lip 1	5.66	5.97	4.89	4.89	3.75	3.68	3.12
	Lip2( $\times 10^{-3}$ )	2.85	8.55	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75
	Mnp	0	0	0	0	0	0	2.90
	VAO	5.66	11.94	9.78	4.89	3.75	0	0
	Laccase	5.26	5.56	4.55	4.55	3.48	3.42	2.90

\* S. ; *Streptomyces*

<sup>†</sup> Lip 1, Lignin peroxidase, type I; Lip 2, Lignin peroxidase, type II, horseradish, 25,000 unit/135 mg solid ( $1.85 \times 10^{-3}$  unit/0.01  $\mu$ g), 190 purpurogollin unit/mg solid, ( $1.9 \times 10^{-3}$  unit/0.01  $\mu$ g), RZ = 1.9; Mnp, Manganese peroxidase; VAO, Veratryl alcohol oxidase

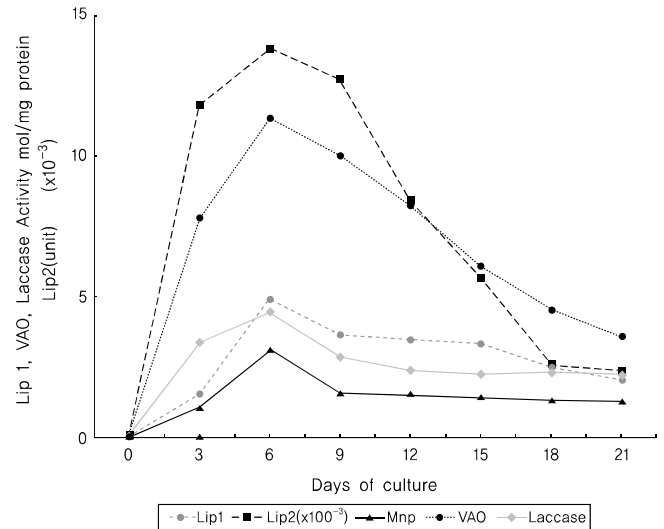
<sup>‡</sup> The unit of Lip 1, Mnp, VAO, and laccase were indicated as nmol/mg. protein and the unit of Lip 2 were indicated as horseradishe proxidase type II.



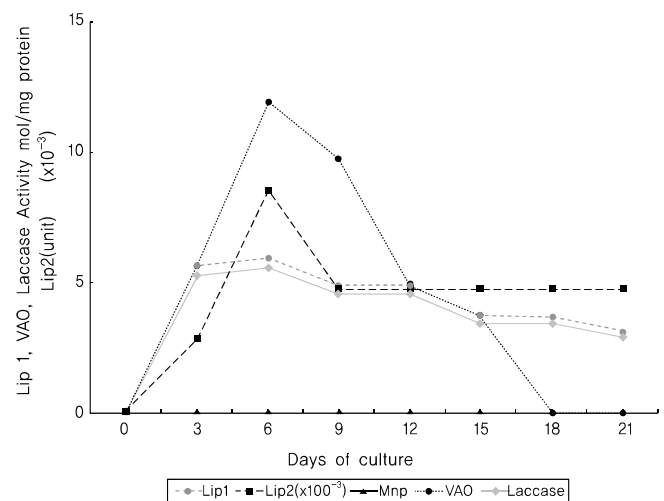
**Fig. 2-1.** The activities of lignolytic enzyme produced by *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27.

균류들도 리그닌을 분해하는 것으로 알려져 있다 (Weissehels 등, 1990). 그러나 방선균류와 세균류에서 분비되는 효소의 종류는 단순하고 리그닌에 대한 선택성의 범위도 백색부후균에 비해 매우 좁다. 따라서 백색부후균들이 현재 생태계에서 리그닌을 가장 완벽하게 분해하는 미생물로 알려져 있다.

목재 백색부후균류의 세포외 효소(extracellular enzyme)로는 laccase, peroxidases 그리고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 생산하는 산화효소 등으로 알려져 있고, 이들이 리그닌을 분해하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 일부 목재 부후균은 리그닌을 분해하는 3가지 효소를 가지고 있지만 많은 균류들은 한두 가지의 효소를 생산하고 있다. 백색부후균이 생산하는 산화성 세포외 효소는 in vitro에서 리그닌을 여러 가지로 분해하며 in vivo에서도 리그닌을 부분적으로 생분해 한다. Laccase는 이온화 전위가 낮아 비페놀화합물을 서서히 분해하는 반면 Lip, Mnp는 높은 이온화 전위를 가지고 있어 즉시 분해한다 (Srinivasan 등, 1995). Laccase와 peroxidase는 전자 한계를 산화함으로써 페놀 화합물과 방향족아민(aromatic amine)을 산화하여 양이온의 라디칼(cationic radical)을 형성하며 이 라디칼은 무작위의 산화반응에 순서대로 작용하여 산화와 탈중합 반응이 일어나 리그닌이 분해된다 (Higuchi, 1989). 그 밖에 리그닌 분해에 관여하는 효소들에는 phenol oxidase에 속하는 tyrosinase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 생산하는 산화효소인 glyoxal oxidase, 그리고 arylalcohol oxidase 등이 있는 것으로 알려져 있다(Kersten과 Kirk, 1987).



**Fig. 2-2.** The activities of lignolytic enzyme produced by *Streptomyces violaceisinger* C1-6.



**Fig. 2-3.** The activities of lignolytic enzyme produced by *Streptomyces badius* ATCC 39117.

본 실험에서 측정된 Lip 1과 Lip 2, Mnp, VAO, laccase에 대한 활성도를 보면 실험균주 중 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27에서 생성된 효소들 중 Lip 1과 Lip 2, VAO, laccase에 활성도는 모두가 배양 6일째에 각각 4.95 nmol/mg. protein, 8.45( $\times 10^{-3}$ ) unit, 10.25 nmol/mg. protein으로서 가장 높은 것으로 나타났으나 Mnp는 전혀 활성도가 없는 것으로 나타났다. 그리고 6일 이후부터 감소현상을 보였다. 이를 김과 윤(1999)이 발표한 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-36과 대조구인 *Streptomyces badius* ATCC 39117에서 생산되는 효소들을 비교해 볼 때 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies*

SA1-36에서 Lip 2만 배양 3일째에 제일 높았던 것을 제외 하면 조사된 각종 효소들 간에 다소 차이는 있어도 모두 같은 현상을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 또한 *Streptomyces lavendulus* SA2-14에서 생산되는 효소들과 비교해 보면 laccase만 배양 3일째에 제일 높았던 것과 약간의 Mnp를 생산하고 있다는 것을 제외 하면 모두 같은 현상을 나타내고 있었다. 이것은 시험균주가 같은 과나 종에 속하는 균주라는 점에서 모든 결과가 유사하게 나온 것으로 사료되나 Lip 2와 laccase의 경우는 같은 과나 종이라도 과나 아종에 따라 약간의 생리적 특징이 다를 수 있기 때문이라 생각된다.

한편 실험균주 중 *Streptomyces violaceusinger* C1-6에서 생성된 효소들 가운데 Lip 1과 Lip 2, Mnp, VAO, laccase에 활성도도 모두가 배양 6일째에 각각 4.90 nmol/mg. protein, 13.85( $\times 100^{-3}$ ) unit, 3.10 nmol/mg. protein, 11.30 nmol/mg. protein, 4.45 nmol/mg. protein로 가장 높은 것으로 나타났다. 그리고 6일 이후부터 감소현상을 보였다. 이와같은 결과들을 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27이나 김과 윤(1999)이 발표한 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-36과 대조구인 *Streptomyces badius* ATCC 39117에서 생산되는 효소들과 비교해 보면 *Streptomyces violaceusinger* C1-6에서는 *Streptomyces lavendulus* SA2-14와 마찬가지로 활성도에 약간의 차이는 있지만 Mnp가 생산되고 있다는 점이 다른 점으로 나타났다. 그리고 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-36과 *Streptomyces lavendulus* SA2-14에서는 Lip 2와 laccase가 각각 배양 3일째 가장 높은 활성도를 보인다는 점은 앞서 *Streptomyces halstedii* ssp. *scabies* SA1-27의 결과에서 언급 했던 바와 같은 이유에서라 하겠다.

금번 새로 분리된 두 방선균에서 생성되는 Lip 1과 Lip 2, Mnp, VAO, laccase의 양이 최(1995)나 임(2003) 등이 담자균류에서 최근 측정된 값보다는 상당히 적은 양임에는 틀림없으나 방선균들에 의한 리그노셀룰로오스 분해 체계가 잘 알려져 있지 않은 상태에서 이들이 분해하는 효소의 종류와 양이 밝혀지고, 또한 근소한 차이가 있지만 모두가 배양 6일째 가장 높은 효소활성도를 보이고, 그 이후에는 점차 감소한다는 사실을 알 수 있었다.

위와 같은 결과를 얻은 것은 방선균을 이용하면 리그닌성 물질들을 분해 할 수 있다는 가능성을 열어 줄 뿐만 아니라 난분해성 물질들을 분해해 줄 수 있는 또 하나의 미생물체임에 틀림없음을 믿어 의심치 않는다.

방선균류에 있어 가장 큰 관심거리는 이미 알려진 Lip, Mnp, VAO, laccase 등의 각종 효소 외에 지금까지 실험되지 않은 다른 효소, 즉 방선균류들의 isoenzymes들에 관한 연구가 있어야 할 것으로 사료되며, 앞으로 여러 종류들의 난분해성 폐기물의 분해 활성도가 뛰어난 방선균주들을 각종 토양이나, 유기체들로부터 분리하는 것은 매우 중요한 일이라 하겠다.

## 참 고 문 헌

1. Bourbonnais R, Paice MG. Veratryl alcohol oxidase from the lignin degrading basidio-mycetes *Pleurotus sajorcaia*. *Biochem J* 255:445-450, 1988.
2. Crawford DL. Lignocellulose decomposition by selected streptomycetes strains. *Appl Environ Microbiol* 35(16):1041-1045, 1978.
3. Cripps J, Bumps JA, Aust SD. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol* 56:114-1114, 1990.
4. de Jong E, de Vries F, Field JA, Vannderzwan R.P, de Bong ZAM. Isolation and screening of basidiomycetes with high peroxidative activity. *Mycol Res* 12:1098-1104, 1992.
5. Glenn JK, Gold MH. Decolorization of several polymeric dyes by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol* 45:1741-1747, 1983.
6. Higuchi T. Mechanisms of lignin degradation by lignin peroxidase and laccase of white rot fungi. *Amer Chem Soc Symp Ser* 399:492-502, 1989.
7. Ishida A, Futamura H, Matsusaka T. Detection of Peroxidase activity and its localization in the forespore envelopes of *Bacillus cereus*. *J Gen Appl Microbiol* 33:37-32, 1987.
8. Kersten PJ, Kirk TK. Involvement of a new enzyme, glyoxal oxidases, in extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production by *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch Microbiol* 169:2195-2201, 1987.
9. Maria B, Pasti, Anthony L. Pometto III, Marco P, Nuti and Crawford DL. Lignin-Solubilizing ability of actinomycetes isolated from termite (termitidae)gut.

- Appl Environ Microbiol* 56(7): 2213-2218, 1990.
10. Paszczynski A, Crawford RL, Huynh VB. Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Purification Method in Enzymol* 161:264-270, 1988.
  11. Ramachandra M, Crawford MDL, Pometto III AL. Extracellular enzyme activities during lignocellulose degradation by streptomyces spp., a comparative study of wild-type and genetically manipulated strains. *Appl Environ Microbiol* 53:2754-2760, 1987.
  12. Schomaker HE. On the chemistry of lignin degradation. *Recl Trav Chim Pays-Bas Belg* 109: 255-272, 1990.
  13. Srinivasan C, D'souza TM, Boominathan K, Reddy CA. Demonstration of laccase in the white rot basidiomycetes *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F1767. *Appl Environ Microbiol* 61:4274-4277, 1995.
  14. Tien M, Kirk TK. Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Method in Enzymol* 23:238-249, 1988.
  15. Weissenfels WD, Beyer M, Klein J. Degradation of phenanthrene, fluorene and fluoranthene by pure bacterial cultures. *Appl Microbiol Biotechnol* 32:479-484, 1990.
  16. Wilsor SC, Jones K1. Bioremediation of soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Rev Envi. on Pollut* 88:229-249, 1993.
  17. 김태전, 한국토양에서의 방선균분리와 PAH화합물의 분해능에 관한 연구(Rimazol Brilliant Blue R 염료의 탈색을 중심으로). 서울보건전문대학 논문집 15: 51-72, 1995.
  18. 김태전. 리그닌을 분해하는 방선균에 의한 염료, 페놀 화합물 및 다핵 방향족 탄화수소의 분해, p.32-50, 50-59, 60-65. 순천향대학교 대학원, 아산, 충남, 1996.
  19. 김태전, Lignin를 분해하는 *Streptomyces* strains에 의한 페놀화합물의 분해. 한국환경위생학회지 26(3):86-91, 2000.
  20. 김태전, 김승곤, 배형준, 두 *Streptomyces* strains에 의한 다핵 방향족 탄화수소화합물의 분해. 임상병리검사과학회지 34(2):75-80, 2002.
  21. 김태전, 김승곤, 윤경화, 토양에서 분리된 방선균들에 의한 Rimazol Brilliant Blue R 염료의 탈색에 질소원과 pH가 미치는 영향. 서울보건전문대학 논문집 17:21-33, 1997.
  22. 김태전, 윤경화, 두 *Streptomyces* strains에 의한 몇몇 염료들의 탈색과 그들에 의해 생산된 각종 효소들에 관한 연구. 한국환경위생학회지 25(2):54-64, 1999.
  23. 김태전, 윤경화, 최한영, *Streptomyces* strains에 의한 Polymeric 염료와 Azo 염료들의 탈색에 관한 연구. 서울보건전문대학 보건과학연구소 논문집 5(2):1-17, 1998.
  24. 윤경화, 김태전, 리그닌을 분해하는 *Streptomyces lavendulas* SA-14에 의한 염료의 탈색. 순천향대학교 자연과학대학연구논문집 4(1):97-103, 1998.
  25. 임형선, 한국산흰구름버섯(*Trametes hirsuta* S1)으로부터 정제된 Laccase의 특성과 여러 고리 방향족 화합물의 분해, p.1, 4-7. 순천향대학교 대학원, 아산, 충남, 2003.
  26. 최양순, 담자균류에 의한 염료의 탈색과 다핵 방향족 탄화수소화합물의 분해, p. 96, 57-60. 순천향대학교 대학원, 아산, 충남, 1995