

Aspergillus oryzae 배양액의 포도당수소페기효소활성에 미치는 몇가지 배양조건의 영향

리정심

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《수학, 물리학, 화학, 생물학과 같은 기초과학부문에서 과학기술발전의 원리적, 방법론적기초를 다져나가면서 세계적인 연구성과들을 내놓아야 합니다.》

Aspergillus oryzae 기원의 포도당수소페기효소(GDH)는 포도당수감부제작에 널리 리용되고있으며 일정한 유도제에 의하여 효소발현량을 높일수 있다.[2]

우리는 선행연구자료[3]의 배양조건을 변화시켜 히드로키논을 유도제로 리용하여 배양액의 GDH활성을 높이기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

GDH발현에 리용된 미생물은 *Aspergillus oryzae* 39이다.

액체배양을 위한 배지성분으로는 길금즙, 콩우림물, 포도당, EDTA(1.0mmol/L), $MgSO_4$ (0.1%)을, GDH유도제[3]로서 벤조키논 또는 히드로키논을 리용하였다. 길금즙사면 배지에서 자란 *Aspergillus oryzae* 39를 한 백금이 취하여 100mL의 액체배양용배지에 접종한 후 30°C에서 진탕배양(200r/min)하면서 12h간격으로 배양상청액의 GDH활성을 측정하였다. GDH활성 1U는 30°C, pH 6.0에서 200 μ mol의 벤조키논이 있을 때 1min동안에 1 μ mol의 포도당을 환원시키는데 필요한 효소량이다.[1]

결과 및 논의

우리는 배양액속의 GDH활성을 높이기 위하여 배양액속의 콩우림물과 포도당의 함량, 유도제의 종류와 농도 등 여러가지 지표들을 변화시켰다.

우선 유도제로서 벤조키논과 히드로키논을 리용하였을 때 배양시간에 따르는 배양상청액의 GDH활성변화를 관찰하였다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 배양액의 GDH활성은 배양시작후 36h 지나서 증가하기 시작하며 108~120h이후에는 다시 감소한다. 이것은 초기에 GDH가 세포내효소로 존재하다가 세포분해나 분비에 의하여 일정한 시간이 지나 효소가 배양상청액으로 나오기 시작하며 일정한 시간이 경과한 후 불활성화되기때문이라고 볼수 있다.

벤조키논을 유도제로 리용한 경우 첨가량은 선행연구자료[3]과 같으며 이때 배양액의 GDH활성도 유사하였다. 배양 108h만에 활성이 최대값에 이르렀으며 히드로키논을 리용한 경우에도 같은 시간에 활성이 최대에 이르렀지만 그 값은 벤조키논을 리용하였을 때보다 42% 높았다. 이로부터 유도제로서 히드로키논을 리용하였다.

다음으로 콩우림물농도에 따르는 배양상청액의 GDH활성의 변화를 관찰하였다.(그림 2)

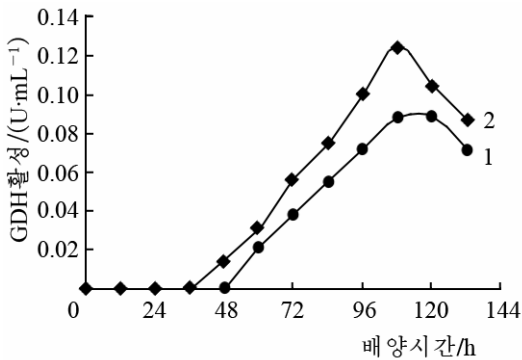


그림 1. 유도제로 벤조키논과 히드로키논을 리용한 경우 배양시간에 따르는 GDH활성의 변화

1-벤조키논, 2-히드로키논;
벤조키논과 히드로키논 0.5mmol/L, 콩우림물 1%, 포도당 2%, EDTA 1mmol/L, MgSO₄ 0.1%, 길금즙 10%, 온도 30℃, 초기pH 6.5

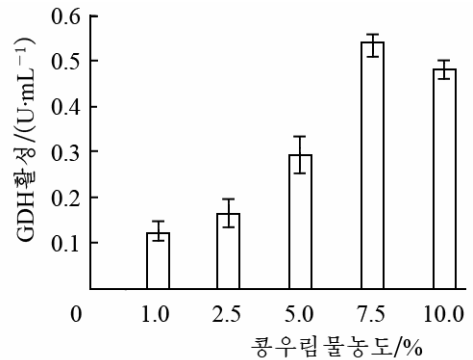


그림 2. 콩우림물농도에 따르는 GDH활성의 변화

히드로키논 0.5mmol/L, 포도당 2%, EDTA 1mmol/L, MgSO₄ 0.1%, 길금즙 10%, 온도 30℃, 초기pH 6.5, 배양시간 108h

그림 2에서 보는바와 같이 GDH활성은 콩우림물농도가 7.5%일 때 가장 높았다.

다음으로 포도당농도에 따르는 GDH활성의 변화를 관찰하였다.(그림 3)

그림 3에서 보는바와 같이 포도당농도가 10%일 때 GDH활성이 최대로 높았으며 이것은 선행연구자료[3](2%)에 비해볼 때 높은 값이다.

다음으로 히드로키논농도를 변화시키면서 배양시간에 따르는 배양액의 GDH활성의 변화를 관찰하였다.(그림 4)

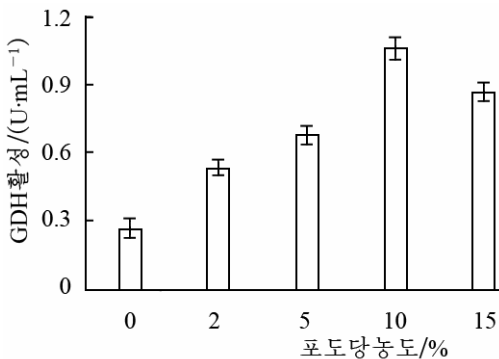


그림 3. 포도당농도에 따르는 GDH활성의 변화

히드로키논 0.5mmol/L, 콩우림물 7.5%, EDTA 1mmol/L, MgSO₄ 0.1%, 길금즙 10%, 온도 30℃, 초기pH 6.5, 배양시간 108h

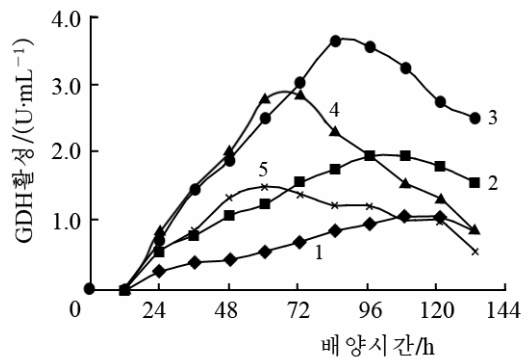


그림 4. 히드로키논농도와 배양시간에 따르는 GDH활성의 변화

1-0.5mmol/L, 2-1.0mmol/L, 3-2.0mmol/L, 4-3.0mmol/L, 5-5.0mmol/L;
콩우림물 7.5%, 포도당 10%, EDTA 1mmol/L, MgSO₄ 0.1%, 길금즙 10%, 온도 30℃, 초기pH 6.5

그림 4에서 보는바와 같이 히드로키논농도가 높아짐에 따라 GDH활성이 최대값에 이르는 시간은 빨라지며 히드로키논농도가 2mmol/L일 때에는 84h만에 GDH활성이 최대로 된다.

이외에도 EDTA, MgSO₄, 길금즙, 배양온도와 초기pH를 변화시킨 실험결과는 선행연구자료[3]와 일치하였다.

선행연구자료[3]의 배양액조성과 실험에서 얻은 GDH활성을 비교해볼 때 콩우림물 7.5배, 포도당 5배, 유도제로 히드로키논을 2mmol/L로 리용하는 경우 GDH활성이 36배 정도 증가하였다.(표)

표. 배양액조성과 배양액의 GDH활성비교

성분	선행연구자료[3]	실험결과
유도제	벤조키논 0.5mmol/L	히드로키논 2mmol/L
콩우림물	1%	7.5%
포도당	2%	10%
EDTA	1mmol/L	1mmol/L
MgSO ₄	0.1%	0.1%
길금즙	10%	10%
배양온도	30℃	30℃
초기pH	6.5	6.5
GDH활성/(U·mL ⁻¹)	0.1	3.64±0.24

맺는말

Aspergillus oryzae 39를 길금즙 10%, 콩우림물 7.5%, 포도당 10%, EDTA 1.0mmol/L, MgSO₄ 0.1%, GDH유도제로서 히드로키논 2mmol/L, 초기pH 6.5인 배지에서 30℃, 84h 진탕배양할 때 배양상청액의 포도당수소페기 효소활성은 (3.64±0.24)U/mL이다.

참고문헌

- [1] C. Sygmund et al.; Microbiology, 157, 3203, 2011.
- [2] K. Sode et al.; Biosensors and Bioelectronics, 87, 305, 2017.
- [3] Y. Tsuji et al.; US007553649B2, 2009.

주체109(2020)년 1월 5일 원고접수

Effect of Some Culturing Conditions on the Activity of Glucose Dehydrogenase from *Aspergillus oryzae*

Ri Jong Sim

Glucose dehydrogenase activity of the culture supernatant is (3.64±0.24)U/mL when *Aspergillus oryzae* 39 is grown in shake flask containing 10% of malt extract, 7.5% of soybean extract, 10% of glucose, 1.0mmol/L of EDTA, 0.1% of MgSO₄, and 2mmol/L of hydroquinone as an inducer for GDH, initial pH 6.5 and at 30℃ for 84h.

Keywords: glucose dehydrogenase, glucose sensor, hydroquinone, *Aspergillus oryzae*