

연속배양에서 고핵산 효모 *Saccharomyces cerevisiae* MTY62 균주의 배양 · 생리학적 특성

김재범, 남수완*

동의대학교 미생물학과

전화 (051) 890-1537. FAX (051) 891-7740

Abstract

In order to investigate the characteristics for RNA accumulation, continuous cultures of *S. cerevisiae* MTY62 under the carbon-limitation or carbon-phosphate-limitation were performed. In the carbon-limited chemostat, the highest RNA content of 144 mg-RNA/g-dry cell was observed at the dilution rate of 0.30 hr⁻¹. In the carbon and phosphate-limited chemostat, the culture condition with the dilution rate of 0.25 hr⁻¹ gave the maximal RNA content of 209 mg-RNA/g-dry cell. The accumulation rate of RNA (mg-RNA/L · hr) was decreased at higher dilution rate in the carbon and phosphate-limited chemostat.

서론

식품산업에서 천연 풍미소재의 사용이 증가함에 따라 다양한 소재 개발이 이루어지고 있다. 그 중 효모 추출물은 대표적인 추출형 풍미소재이다. 효모가 풍미소재로 개발되기 위해서는 먼저 효모 세포내 RNA 함량이 높아야 한다. 효모 세포내 RNA 축적에 대한 연구는, 대사 생리적인 측면에서 균체 증식속도에 따른 단백질과 ribosome 합성속도의 변화¹⁻⁴⁾와 온도변화에 따른 RNA 함량 변화⁵⁾ 등이 연구된 바 있다. 효모 세포내 RNA 함량은 비증식속도(μ)가 높을수록 증가한다.⁶⁾ 즉, 균체수율($Y_{x/s}$) 값이 높게 유지되는 비증식속도(μ)의 범위 내에서 비증식속도를 최대한 높게 유지하도록 기질공급전략을 도출하고 배양에 적용해야 한다. 본 연구에서는 고핵산 효모 균주 MTY62 균주를 사용하여 탄소원 제한 또는 탄소원 및 인산 제한 연속배양에서 RNA 축적 특성을 비교함으로써 유가배양을 위한 최적 기질공급전략을 도출해 보고자 한다.

재료 및 방법

균주, 배지 및 배양조건

사용한 균주는 *Saccharomyces cerevisiae* MTY62이며, 회분 및 연속배양 배지는 포도당과 (NH₄)₂SO₄, salts, 비타민 등으로 이루어진 최소배지를 사용하였다. 회석속도는 0.10 ~ 0.35 hr⁻¹ 범위내에서 조절하였고, 배양부피는 1.0 L, pH는 5.5, DO

는 40% 이상으로 유지하였다.

각종 분석법

균체농도는 탁도(OD₆₀₀)로 측정된 후 건조균체량(DCW)으로 환산하였고, 잔존 포도당 농도는 Glucose Analyzer (YSI)로 측정하였다. 회수한 효모 균체에 10% perchloric acid를 첨가한 후 95°C에서 1 hr 처리하여 RNA를 추출하였으며, 추출된 RNA는 orcinol 법으로 정량하였다. 이때 Sigma사의 효모 RNA를 표품으로 사용하였다. Phosphate 농도측정은 ascorbic acid 환원법을 사용하였고, 에탄올 및 암모니아 측정에는 Sigma사의 측정 kit를 사용하였다.

결과 및 고찰

탄소원 제한 연속배양에서의 균체량은 희석율(D)이 증가할수록 조금씩 감소하는 경향을 보였으며, 균체내 RNA농도는 희석율이 증가할수록 증가하는 양상을 보였다. 즉, $D = 0.3 \text{ h}^{-1}$ 에서 가장 높은 550 mg-RNA/L를 나타내어 가장 낮은 $D = 0.1 \text{ h}^{-1}$ 에서의 363 mg-RNA/L 보다 약 1.5배 증가하였다. 이에 따라 RNA 함량은 $D = 0.3 \text{ h}^{-1}$ 에서 가장 높은 144 mg-RNA/g-DCW을 나타내어 가장 낮은 $D = 0.1 \text{ h}^{-1}$ 에서의 87 mg-RNA/g-DCW 보다 약 1.7배 높은 값을 나타내었다 (Fig. 1). 이와 같은 균체 생육속도와 RNA 축적 관계는 세포내 RNA와 단백질 합성속도에 기인되는 것으로 보여진다. 일반적으로 전체 효모 RNA 중 ribosomal RNA(rRNA)가 80~90%를 차지하기 때문에 생육속도의 증가에 따른 RNA 함량 증가는 주로 rRNA의 증가에서 기인된다¹⁾고 할 수 있다. RNA 축적속도(Q_p , mg-RNA/L · hr)와 비축적속도(q_p , mg-RNA/g-cell · hr)도 희석속도가 증가할수록 증가하는 양상을 나타내었다(Fig. 2).

탄소원 및 인산 제한 연속배양에서는 희석율이 증가할수록 균체량이 급속히 줄어들었으며, 이에 따라 RNA농도도 급격히 줄어드는 양상을 보였다. 그렇지만 RNA 함량은 희석율이 증가할수록 증가하는 양상을 보이며 $D = 0.25 \text{ h}^{-1}$ 에서 가장 높은 209 mg-RNA/g-DCW를 나타내었다(Fig. 3). Q_p 는 희석율이 증가할수록 감소하는 양상을 나타내었지만 q_p 는 증가하는 양상을 나타내었다(Fig. 4). 이상의 결과에서 균체량, RNA 함량, Q_p , q_p , 및 에탄올 생성 등을 고려해 볼 때, $D = 0.30 \text{ hr}^{-1}$ 이 RNA 축적에 가장 적절한 희석율임을 알 수 있었으며, 이와 같은 비증식속도를 유지하는 기질공급전략이 풍미소재 고핵산 효모의 대량생산에 적절할 것이라 추정된다.

참고문헌

1. Wanldron, C. and F. Lacroute, "Effect of growth rate on the amounts of ribosomal and transfer ribonucleic acid in yeast" (1975), J. Bacteriol., 122, 855.
2. Boehlke, K. W. and J. D. Frieser, "Cellular content of RNA and protein in

Saccharomyces cerevisiae as a function of exponential growth rate" (1974), J. Bacteriol, 121, 429.

3. Sebastian, J. and H. Halvorson, "Effect of th growth rate on the DNA dependent RNA polymerase in *Saccharomyces cerevisiae*" (1973), FEBS Letters, 34, 159.
4. Hartwell, L.H, "Macromolecular synthesis in temperature sensitive mutants of yeast" (1967), J. Bacteriol, 93, 1662.
5. Kim, S. Y., O. S. Kwon, and H. S. Nam, "Effect of growth rate and cultivation temperature on the yeast RNA accumulation and autolysis efficiency" (1995), Kor. J. Food Sci. Technol, 27, 129.
6. Kim, S. Y., H. S. Nam, and H. J. Lee. "Change of yeast growth and its RNA content in fed-batch fermentation" (1996), Kor. J. Food Sci. Technol, 28, 122.

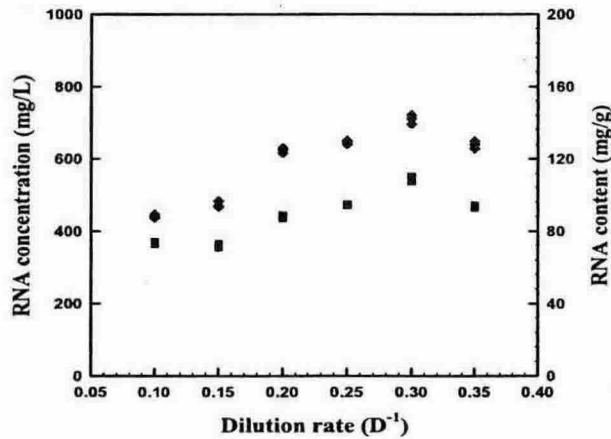


Fig. 1. Effect of dilution rate on the RNA concentration and RNA content under the carbon-limitation.

■; RNA concentration, ◆; RNA content

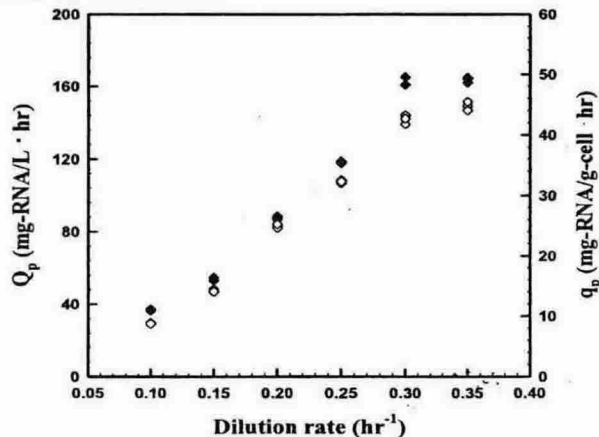


Fig. 2. Effect of dilution rate on the RNA accumulation rate under the carbon-limitation.

◆; Q_p , ◇; q_p

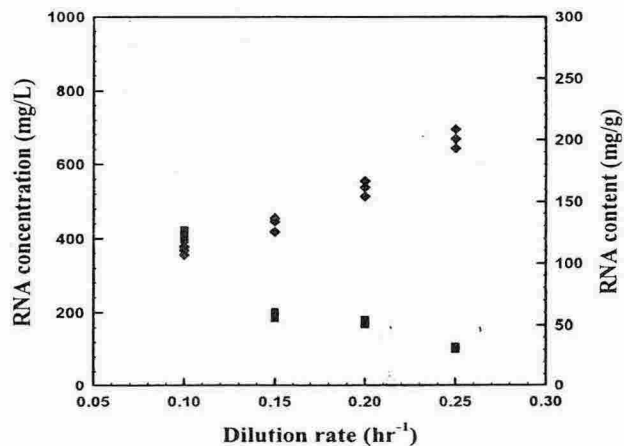


Fig. 3. Effect of dilution rate on the RNA concentration RNA content under the carbon and phosphate-limitation.

■; RNA concentration, ◆; RNA content

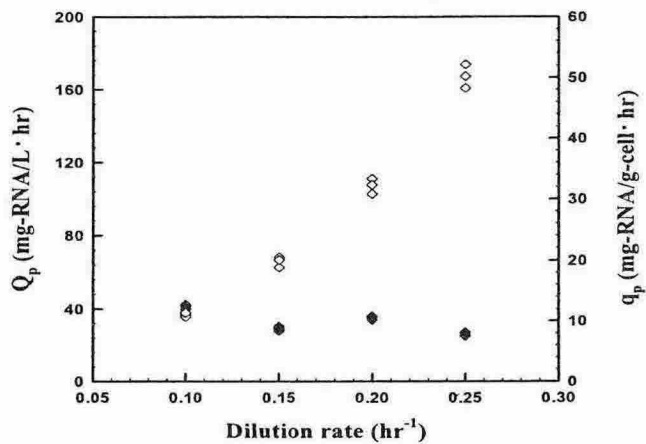


Fig. 4. Effect of dilution rate on the RNA accumulation rate under the carbon and phosphate-limitation.

◆; Q_p , ◇; q_p