

## 유기용매내성세균에 의한 INDIGO 와 INDIRUBIN의 생산

장진성<sup>1</sup>, 강정환<sup>1</sup>, 이희정<sup>2</sup>, 최영환<sup>3</sup>, 이영근<sup>4</sup>, 정영기<sup>5</sup>, 주우홍<sup>1</sup>

<sup>1</sup>창원대학교 생물학과, <sup>2</sup>창원대학교 유전공학연구소, <sup>3</sup>밀양대학교 원예학과, <sup>4</sup>밀양대학교 식품과학과,

<sup>5</sup>동의대학교 미생물학과

전화 (055)279-7443, FAX (055)279-7449

### Abstract

The indole tolerance level of *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106 was as high as 300 mg/ml when toluene or *p*-xylene was added to the medium to 20% by volume. *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106 grown in a two-phase system containing the various concentrations of indole and solvents produced indigo and indirubin. The optimal condition in the production of indigo and indirubin was also studied.

### 서론

Indigo와 indirubin은 각각 천연색소와 만성 백혈병 치료제로서 이들의 생산에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 연구보고는 미생물과 식물재료에 집중되어 있으며, 미생물에 의한 이들의 생산은 Gray에 의해 1928년 보고된 이래 생체내에서의 transformation에 관여하는 효소의 낮은 안정성으로 인하여 문제점이 노정되고 있다. 본 연구에서는 indigo와 indirubin을 생산하는 균주의 탐색과 생산의 최적화에 있으며, indole과 다양한 유기용매에 대한 생존력을 바탕으로 전환율을 고양하는데 있다.

### 실험 재료 및 방법

#### 1. 공시균주 및 배양

*Pseudomonas savastanoi* BCNU106를 공시균주로 사용하였으며 LBM medium 과 MSM(mineral salt medium)에서 다양한 중금속 내성과 자화능을 조사하였다.

#### 2. Indole 의 소비율, indigo 및 indirubin의 생성률 조사

공시균주의 indole내성과 다양한 유기용매와 배지를 이용하여 indole의 conversion율(indigo 및 indirubin의 생성률)을 분광학적 방법과 HPLC를 병용하여 확인하였다.

## 결과

연구결과 *Pseudomonas savastanoi* BCNU106의 indole에 대한 최소저해농도는 300mg/ml이상인 것으로 나타났으며 현재까지 보고된 내성한계 4mg/ml보다 75배 이상 내성이 있음을 확인하였고 증금속에도 강한 내성을 가지고 있음을 확인할 수 있었고 indigo와 indirubin의 생산조건이 배지나 유기용매에 따라 상이함을 확인할 수 있었다. indigo생산은 conversion medium과 *p*-xylene에서 생산성이 좋았으며 indirubin의 생산은 MSM에서 많이 생산됨을 확인하였다.

## 참고 문헌

1. Allen, C. C. R., D. R. Boyd, M. J. Larkin, K. A. Reid, N. D. Sharma, and K. Wilson, Metabolism of naphthalene, 1-naphthol, indene, and indole by *Rhodococcus* sp. strain NCIMB 12038. Appl. Environ. Microbiol. 1997, 63:151-155.
2. N. Doukyu, T. Arai, and R. Aono. Effects of organic solvents on indigo formation by *Pseudomonas* sp.strain ST-200 grown high levels of indole, Biosci. Biotechnol. Biochem.,1998, 62(6), 1075-1080.
3. Eaton, R. W., and P. J. Chapman Formation of indigo and related compounds from indolecarboxylic acids by aromatic acid-degrading bacteria: chromaogenic reactions for cloning genes encoding dioxygenases that act on aromatic acids. J. Bacteriol. 1995, 177 6983-6899.

Table 1. BCNU106균주의 indole 내성

Indole(mg/ml)	Medium	생존율	
		LBM	Conversion
0.04mg		++	+
0.32mg		+++	++
0.64mg		+++	++
0.84mg		+++	++
10mg		+++	++
13mg		++	++
100mg		+	+
200mg		+	+
250mg		+	+
300mg		+	+

Table 2. BCNU106균주의 다양한 중금속에서의 성장

concentration Heavy metals	Resistant(+) or Sensitive(-)		
	1ppm	3ppm	5ppm
Zn	++	+	-
Mn	++	++	++
Al	+	-	-
Cu	++	+	+
Si	+++	++	+++
Pb	+	+	+
Cr	+++	+++	++
Mg	++	+	+
Ag	++	+	-
Hg	+	+	+
Mo	++	+	+

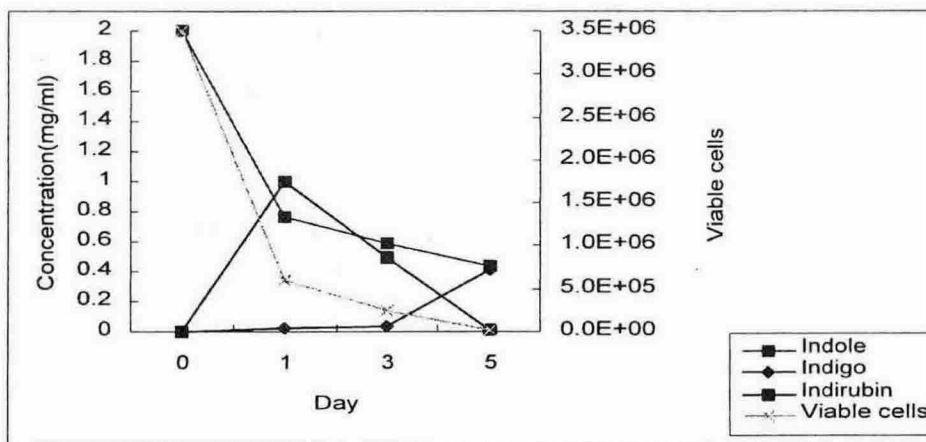


Fig 1 Production of indigo and indirubin in the presence of indole and xylene