

## 균주개발 및 morphology 개선을 통한 acarbose 생산성 증진

경수현, 박장우, 최병택, 신희종, 김정환, 홍청일  
종근당 종합연구소

### Introduction

Acarbose는 독일의 Bayer사에 의해 *Actinoplanes* 방선균에서 처음 분리되었으며, Type II 당뇨병의 치료제 중  $\alpha$ -glucosidase inhibitors 군에 속하며 당분해효소의 작용을 억제함으로써 혈중당 상승을 지연시켜 당뇨병의 예방 및 진전을 늦출 수 있는 것으로 보고되어 있다.<sup>(1)</sup>

*Actinoplanes sp.*의 경우 일반적으로 submerged cultures에서 filamentous type과 pellet type의 growth pattern을 보인다. Mycelial morphology는 흔히 culture rheology와 2차 대사산물 생산에 영향을 미치며 product 종류에 따라 pellet growth가 유리한 경우가 있고 filamentous growth가 유리한 경우도 있다.<sup>(2-5)</sup> 본 연구에서는 acarbose 생산에 미치는 mycelial morphology의 효과를 조사하였다.

균주개발을 통해 얻은 mutant strain의 배양 특성을 wild strain과 비교한 결과 free mycelia type보다는 pellet type의 비율이 높게 나타났으며 resting cell system을 이용하여 free mycelia와 pellet의 생산성을 조사한 결과 pellet type의 생산성이 높았다. 한편 pellet 형성에 영향을 미치는 요소인 agitation, 전배양 횟수, 배지 조성, inoculum size 등을 연구하여 생산성이 향상된 조건을 얻을 수 있었다.

### Materials and Methods

본 실험에서는 *Actinoplanes sp.* ATCC 31044와 NTG mutation을 통해 얻은 mutant를 사용하였다. 100ml 삼각 flask에 20ml씩 분주한 전배양 배지에 FVM을 1% 농도로 접종하여 28°C rotary shaker (rpm 210)에서 48시간 배양한 후 2단 전배양 및 본배양의 접종액으로 사용하였다. 100ml baffled 삼각 flask에 20ml씩 분주한 본배양 배지에 전배양액을 5% 접종하여 25°C rotary shaker (rpm 210)에서 5~7일 배양하였다.

### Results and Discussion

Wild strain과 mutant strain을 배양한 결과 wild strain의 경우 20-40 $\mu$ m, mutant strain은 60-80 $\mu$ m 정도의 pellet size를 보였다. Mutant strain이 wild strain보다 생산성이 높은 이유를 찾기 위해 resting cell system을 이용하여 조사한 결과 pellet type이 free mycelia type보다 높은 생산성을 보였다.

이를 근거로 하여 morphology 측면에서 free mycelia보다는 pellet type으로 유도하기 위한 방법으로 전배양 및 본배양의 inoculum size와 agitation, 전배양의 횟수, 탄소원 종류를 조사하였다. 전배양의 inoculum size는 1.2%, rpm은 300, 탄소원으로 glucose를 사용하는 것이 유리하였다. 또한 본배양에서는 inoculum size 5%, rpm 400, 탄소원으로 glucose를 사용하였을 때 pellet type이 많이 형성되었다. 이상의 조건으로 기초로 하여 배양하였을 때 약 130%의 생산성이 증가되었다.

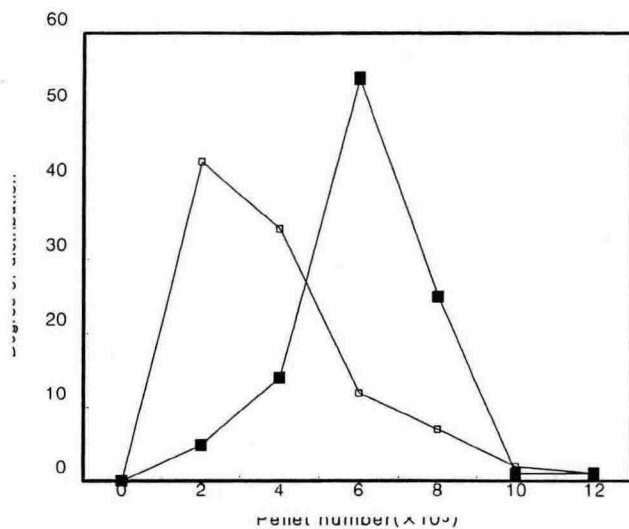


Fig. 1. Pellet number of wild strain and mutant strain  
 □ wild strain, ■ mutant strain.

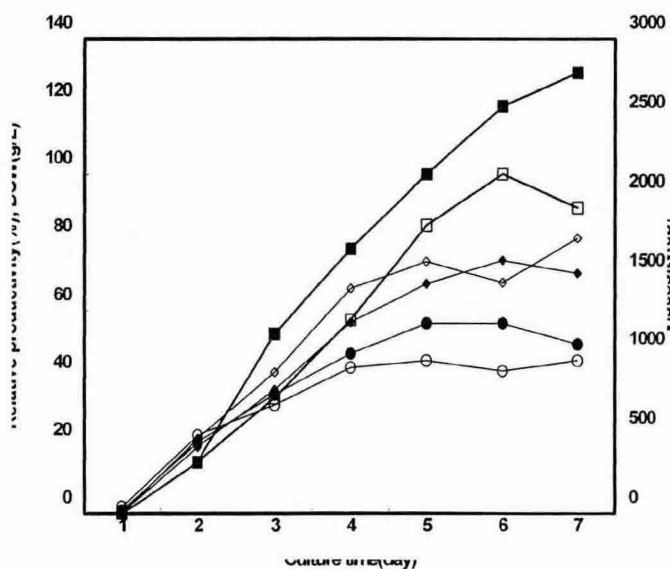


Fig. 2. Time courses of acarbose production cultures using the new (closed symbols) and conventional (open symbols) process.

Symbols: ■, relative acarbose production(%);  
 ●, DCW(g/L); ◆, viscosity(cp).

## References

1. US Patent 3876766 (1975).
2. Chark, D. S.: Submerged citric acid fermentation of ferrocyanide treated beet molasses: morphology of pellets of *Aspergillus niger*. Canadian J. Microbiol., 8, 133-136 (1962)
3. Smith, J. J., Lilly, M. D., and Fox, R. I.: The effect of agitation on the morphology and penicillin production of *Penicillium chrysogenum*. Biotechnol. Bioeng., 35, 1011-1023 (1990)
4. Masahiko Hosobuchi, Kaneo Ogawa, and Hiroji Yoshikawa: Morphology study in production of ML-236B, a precursor of pravastatin sodium, by *Penicillium citrinum*. J. Ferment. Bioeng., 76, 470-475 (1993)
5. Masahiko Hosobuchi, Kaneo Ogawa, and Hiroji Yoshikawa: Morphology control of preculture during production of ML-236B, a precursor of pravastatin sodium, by *Penicillium citrinum*. J. Ferment. Bioeng., 76, 476-481 (1993)