

P50

초고온성 해양 미생물 *Thermotoga neapolitana*의 혐기적 배양방법의 개발

박탁현 · 박천석¹ · 이수복² · 차재호

부산대학교 미생물학과

¹경희대학교 생명과학부 식품공학전공²연세대학교 식품영양학과

초고온성 미생물이 생산하는 당전이효소의 특성을 조사하기 위하여 다양한 당분해능을 가지는 것으로 알려진 심해 열수공에서 발견된 혐기성 초고온균 *Thermotoga neapolitana*를 선정하였다. *Thermotoga neapolitana* KCCM 41025 균주는 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양 받았으며 배양용 배지로는 다량의 미량원소를 함유하는 인공 해수용 배지를 사용하였고, 탄소원으로는 soluble starch를 첨가하였다. *T. neapolitana*는 높은 배양온도를 유지하기 위하여 dry oven에서 85℃로 약 10일간 배양하였으며, 혐기적인 조건을 유지하기 위하여 혐기성균의 배양에 사용되는 120 ml 용량의 vial을 사용하였고, 제조된 배지는 90℃에서 30분 이상의 N₂ sparging과 sodium sulfide를 이용하여 resazurin의 색 변화를 유도하며 용존산소를 제거하였다. 배양 3일 후부터 다량의 gas발생과 배지의 색깔 변화가 관찰되었으며, 배양된 *T. neapolitana*는 현미경으로 관찰하였을 때 강한 운동성을 보여 주었다. 배양된 *T. neapolitana*는 냉동보관 시 균주의 활성이 현저히 떨어졌으나 실온에서 보관하였을 때 약 3주간 안정하였다. 이 배양된 미생물이 *T. neapolitana*인지 확인을 위하여 염색체 DNA를 분리하여 16S rRNA의 유전자를 PCR로 증폭하여 염기서열을 결정 한 후, BLAST로 비교한 결과 *T. neapolitana*의 16S rRNA 염기서열과 100% 일치함을 알 수 있었다.