韓 國 菌 學 會 誌 第10卷 第4號
*Kor, J. Mycol.* Vol. 10, No. 4, 193~202, 1982

# 검정곰팡이의 分化에 따른 總炭水化物 및 트레하로즈量의 變動에 대한 硏究

金 信 淑·金 鍾 協
梨花女子大學校 藥學大學 製藥學科

# Studies on Carbohydrate Accumulation in *Aspergillus niger* During the Differentiation

Shin Sook Kim and Jong Hyup Kim
*College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea*

**Abstract:** The changes of total carbohydrates and trehalose levels during differentiation of *A. niger* were studied. *Aspergillus niger* was cultivated in Czapeck-Dox medium by the method of surface culture and shake culture. Total carbohydrates and trehalose were fractionated and determined by the method of Trevelyan and Harrison (1956). Total carbohydrates and trehalose accumulated in *A. niger* during sporulation. The influences of nutritional starvation on the levels of cellular carbohydrates in *A. niger*, which was cultivated in each nitrogen, phosphate and glucose limited Czapeck-Dox medium, were studied. The levels of total carbohydrates and trehalose in *A. niger* cultivated in nitrogen limited medium increased much than those cultured in full medium. The total carborates and trehalose levels in *A. niger* cultivated in phosphate limited medium increased, but the increases were less than those cultured in nitrogen limitted medium. In glucose limited medium, any changes of total carbohydrates and trehalose levels were not found. It is considered that the biochemical mechanisms responsible for the changes of total carbohydrates and trehalose levels may be related with differentiation of *Aspergillus niger*.

## 緖 論

미생물의 분화과정은 크게 포자형성과정과 발아과정으로 나누어진다. 예를 들면, 진핵 미생물인 곰팡이의 경우, 영양세포인 균사체가 생식형인 포자로 되는 것을 포자형성과정이라 하며, 생식형인 포자가 발아하여 균사를 형성하는 과정을 성장과정이라 한다.

모든 분화현상에는 생화학적 변화가 수반된다. 검정곰팡이(*Aspergillus niger*)는 진핵 미생물로서 그 형태가 간단하며 분화의 시상과 한계가 뚜렷하고 배양이 용이하므로 미생물 분화연구에 많이 이용되어 왔다. 검정곰팡이의 성장과 분화를 조절하는 환경인자의 연구는 진핵 미생물의 분화 연구에 기본이 될 뿐 아니라 이들을 이용하는 특이한 공업적 생산과정에도 중요하다.

Cantino(1961)는 수성 곰팡이인 *Blastocladiella emersoni*는 물속의 탄산이온($HCO_3^-$)의 존재유무에 따라 분화양상이 좌우된다고 보고하였다. 이것은 환경인자가 분화에 미치는 영향을 잘 지적해 주는 한 예이다.

El Kotry(1970)는 *Aspergillus oryzae*의 배양에서 배지의 화학성분인 maltose의 농도를 0.25%로 희석함으로서 포자형성을 야기시켰음을 보고하였다.

그러므로 분화의 양상을 실험적으로 조절하는 배양기술의 발달은 분화에 미치는 정확한 환경요인을 분석케 할 뿐아니라 환경요인의 분화에 미치는 생화학적 기구의 연구 발전에도 기여해 왔다. 표면 배양법은 곰팡이 배양의 전통적인 방법으로서 포자형성에 미치는 환경의 영향과 유전적 해석 연구에는 기여했으나, 표면배양법의 특징인 균체형성은 전체적으로 균질치 못하므로 생화학적 연구에는 도움을 주지 못한다. (Smith

and Anderson, 1973)

Smith와 Anderson(1971)은 검정 곰팡이를 동조적으로 액침 배양하는 방법을 개발하였는데, 배지의 질소원을 제한시키고 산소공급을 제한시켰을 때, 포자병이 성장하며, 탄소원으로서 TCA회로의 중간산물인 구연산을 포함하는 새로운 배지의 대치로 경자의 형성을 촉진하고 다음 질소원으로서 질산 나토륨을, 탄소원으로서 포도당을 넣은 배지에서 포자형성이 활발하게 일어남을 보았다. 이 동조적 액침배양법의 개발은 곰팡이 분화시의 생화학적 연구에 기여한 바 크다.

1976년 Cochrane은 사상균에서 EMP경로와 pentose Phosphate 경로를 통해 해당 작용이 일어남을 보고하였다. *Aspergills niger*에서 EMP경로와 pentose phosphate 경로의 어떤 효소의 특이한 활성도는 생활사의 각 단계와 배지의 성분에 따라 변화한다.

EMP경로의 대부분의 효소의 활성을 비교해 볼 때 포자형성 배지의 추출물에서의 활성이 포자불형성 배지의 추출물에서 보다 높았다. (Smith, J.E., Valenzuela-Perez, J. and Ng. W. 1971.)

포자병의 분화시에는 pentose phosphate경로의 효소 활성도가 EMP경로의 효소 활성도보다 높았는데, 이는 pentose Phosphate경로를 통한 글루코즈산화가 포자병 분화에 중요함을 암시한다.

Behal과 Eakin(1959)은 검정 곰팡이에 있어서 세포내의 해당작용과 TCA회로가 필수적임을 밝혔다.

Sussmann(1967~1970)은 점균류인 *Dictyostelium discoideum*의 포자는 응집화를 일으킨 후 변형하여 과실체를 만들고 이것이 포자를 형성하는데, 이때 UDP-galactose transferase 및 trehalose-6-phosphate synthetase, UDP-glucose pyrophosphorylase가 특정시기에 생선된다는 것을 보고했다. 이는 분화에 있어서 어떤 특정한 효소의 합성이 전제되어야 한다는 것을 암시하므로 분화의 생화학적 기초는 특정 단백질의 합성에 있다고 볼 수 있다. 검정 곰팡이 동조배양에서 Kim(1978)은 알파 아밀라제는 경자가 성숙하는 단계 즉 포자형성의 초기 단계에서 활성이 왕성함을 보고하였다.

Nagaski(1968. b)는 검정 곰팡이의 분화에 따르는 인산대사의 연구에서 어린 균사에서의 alkaline phosphatase의 활성도는 acidic phosphatase의 활성도보다 높고, 이들 효소의 활성도는 균사에서 보다 포자병에서 높음을 보고하였다. 검정 곰팡이의 포자형성 동안에 균사체의 추출물로부터 esterase를 확인하였으며 포자형성시에 그 활성도가 증가한다. (Lloyd *et al.*, 1972). Esterase의 활성도가 정낭과 경자가 형성되기 직전에 급속히 증가함은 포자형성 동안에 지방이 탄소원으로서 이용됨을 암시한다.

검정 곰팡이의 분화에 따른 탄수화물 대사의 변동에 관한 것은 catabolite repression과 관련되는 문제이기도 하며 포자형성시 생성되는 2차대사 산물과 연관지어 생각할 수 있는 문제이기도 하다. 효모균의 포자형성시 세포의 분열없이 그 크기와 증량만이 증가하는데, 이 건조증량 증가의 67%는 trehalose와 불용성물질을 포함하는 탄수화물의 합성에 기인된다고 한다. 불용성 탄수화물은 자낭포자가 형성되기 바로 전 시기에만 축적되고, trehalose는 포자형성의 전체시기를 통해 축적되며, 자낭포자에 특이하게 편재한다. (Roth, 1969)

Trehalose는 효모, 곰팡이를 비롯하여 자낭균류, *Neurospora*의 포자 등에 축적되어 있다. (Birch, 1963). Trehalose와 일부의 굴리코겐은 에너지 저장원의 기능을 하고, 그 밖에 불용성 탄수화물인 mannan, glucan, chitin 등은 세포벽의 구성분이 된다. (Northcote and Horne, 1952; Kreger, 1954)

Birch(1963)는 *Neurospora tetrasperma*의 자낭포자가 발아한 때 trehalose가 소멸되는 것으로 보아, trehalose가 기질로서의 역활을 함을 제시하였다. Brandt (1941)는 효모세포가 정상배지에서 증식할 때는 trehalose가 급격히 소멸되었으나 동화할 수 있는 질소원이 없을 때는 증가하는 것으로 보아 배지의 질소원이 효모의 세포내의 trehalose함유량에 영향을 끼침을 제시했다.

Trevelyan과 Harrison(1952)은 효모의 탄수화물 정량분석에 있어서 Dreywood의 Anthrone시약법 (Dreywood, 1946)을 적용시켰다, 그들은 페이퍼 크로마토그래피와 붕산염 복합물의 이온교환 크로마토그래피를 이용하여 냉 trichloroacetic acid에 의해 추출될 수 있는 유일한 탄수화물이 trehalose임을 동정하였다.

본 연구에서는 검정 곰팡이를 정치배양법과 진탕배양법을 교대로 실시하면서 검정 곰팡이의 분화에 따른 탄수화물량과 trehalose량을 정량함으로서 검정 곰팡이의 분화와 탄수화물 대사와의 관계를 규명코저 하였다. 또한 검정 곰팡이의 분화가 이루어지고 있는 배지내의 질소, 인산, 글루코스의 함량을 제한시켜 이것이 검정 곰팡이내의 총 탄수화물량과 trehalose량에 미치는 영향을 조사함으로서 이들 물질들의 량적 변동이 포자형성에 미치는 영향을 아울러 규명코저 하였다.

## 實驗材料 및 方法

### 1. 실험 재료

*Aspergillus niger* van Tieghem(IMI 41873) 균주를 실험에 사용하였다.

### 2. 실험 균주의 배양

#### (1) 배지의 조성

모든 배지는 제 증류수를 사용하여 만들었으며 121°C, 15Lbs.에서 20분간 고압 멸균한 다음 냉장고에 4°C로 보관하였다. 이중 사면 배지는 멸균한 후에 시험관에 분주하였으며 30°C에서 3일간 항온 후에 다른 균의 번식이 없는 것을 확인하고 사용하였다.

a. 감자 글루코즈 사면배지

감자 300g를 잘게 절단한 것을 500ml의 증류수로 끓여서 가제로 여과한 다음 한천 15g을 녹이고 다시 포도당 20g을 넣어 배지를 1,000ml 되게 만들었다.

b. 정치배양용 배지

정치배양용 배지로 Czapeck-Dox배지를 사용하였다. Czapeck-Dox배지의 성분은 〈Table 1〉과 같다.

**Table I.** The composition of Czapeck-Dox medium.

| Ingredient | Amount(g) |
|---|---|
| Glucose | 30 |
| $NaNO_3$ | 3.0 |
| $K_2HPO_4$ | 1.0 |
| KCl | 0.5 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.5 |
| $FeSO_4$ | 0.01 |
| Distilled water | 1000ml |

pH was adjusted to 6.5

c. 진탕배양용 배지

Table I과 같다.

d. 영양원의 제한

① 질소 제한 배지 : Czapeck-Dox 배지의 질소원인 $NaNO_3$ 함량만을 기본배지의 질소원의 75%, 50%, 25%가 되게 하였다.

② 인산 제한 배지 : Czapeck-Dox 배지의 인산원인 $K_2HPO_4$의 함량만을 기본배지의 인산원의 75%, 50%, 25%되게 하였다.

**Table II.** The composition of nitrogen limited medium in Czapeck-Dox medium.

| Ingredient \ Conc. | 75% | 50% | 25% |
|---|---|---|---|
| Glucose | 30(g) | 30(g) | 30(g) |
| $NaNO_3$ | 2.25 | 1.5 | 0.75 |
| $K_2HPO_4$ | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| KCl | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| $FeSO_4$ | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Distilled water | 1000ml | 1000ml | 1000ml |

pH was adjusted to 6.5

**Table III.** The composition of phosphate limited medium in Czapeck-Dox medium.

| Ingredient \ Conc. | 75% | 50% | 25% |
|---|---|---|---|
| Glucose | 30(g) | 30(g) | (30g) |
| $NaNO_3$ | 3 | 3 | 3 |
| $K_2HPO_4$ | 0.75 | 0.5 | 0.25 |
| KCl | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| $FeSO_4$ | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Distilled water | 1000ml | 1000ml | 1000ml |

pH was adjusted to 6.5.

③ 글루코즈 제한 배지 : Czapeck-Dox 배지내의 글루코즈의 함량만을 기본배지의 탄소원 75%, 50%, 25%로 제한하였다.

**Table IV.** The composition of glucose limited medium in Czapeck-Dox medium.

| Ingredient \ Conc. | 75% | 50% | 25% |
|---|---|---|---|
| Glucose | 22.5(g) | 15(g) | 7.5(g) |
| $NaNO_3$ | 3 | 3 | 3 |
| $K_2HPO_4$ | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| KCl | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| $FeSO_4$ | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Distilled water | 1000ml | 1000ml | 1000ml |

pH was adjusted to 6.5.

(2) 배양방법

정치배양만을 실시하여 포자형성 과정을 실현시킨 실험과 진탕배양에서 균사체를 발육시킨 뒤 정치배양으로 옮겨서 포자형성을 시킨 두 가지 방법이 시행되었다.

a. 진탕 배양

계대 배양된 검정 곰팡이를 감자—글루코즈 사면배지에 30°C에서 7일간 배양하였다.

포자 현탁액 1.0ml를 100ml의 Czapeck-Dox 배양액을 가한 500ml용적의 삼각 플라스크에 이식시킨 후 솜마개를 하고 30°C의 진탕 배양기에서 110rpm의 속도로 배양하였다. 이 배양이 끝난 후에 균사체를 정치배양액으로 옮겨 포자형성을 시켰다.

b. 정치 배양

감자—글루코즈 사면배지에서 배양된 검정 곰팡이 포자를 멸균증류수에 현탁시키고, Sintered glass filter (I.G.3)로 포자를 여과하였다. 이 포자 현탁액 1.0ml를 Czapeck-Dox배양액이 들어 있는 500ml용적의 비이커에 이식시키고 두께 2cm되는 멸균된 솜의 패드를 가제로 싸서 덮은 후 30°C에서 7일간 배양하였다. 포자형성은 이 배양에서 시행되었다.

**8. 탄수화물 분획 및 그 정량분석**

검정곰팡이 세포내의 탄수화물의 분획 및 그 정량법은 Trevelyan 및 Harrison(1956)의 방법을 채택하였다.

(1) 총 탄수화물의 분획 및 정량

검정 곰팡이 균체를 증류수로 수회 세척하여, 습윤균체 100mg당 0.5 mol. trichloroacetic acid 4.0ml를 넣고 마쇄한후 100ml volumetric 플라스코에 넣고 증류수로 100ml되게 한다. 측정직전에 격렬하게 진탕하여 균일한 현탁액을 얻는다. 이 현탁액 1.0ml를 취하여 당으로써 정량한다. 이때 현탁액 1.0ml는 습윤 균사체 1.0mg에 해당한다.

(2) Trehalose의 분획 및 정량

습윤 균체 100mg에 냉 0.5 mol, trichloroacetic acid 4.0ml를 가하고 빙욕상에서 1시간 방치한다. 이때 자주 흔들어 주지 않으면 trehalose추출이 불완전해진다. 3000rpm의 속도로 5분간 원심분리한 후 4.0ml 증류수로 세척하고 그 상동액을 합해 25ml로 한다. 이 액 1.0ml를 취하여 당량을 측정한다. 이 때 4.0mg는 습윤 균사체 100mg에 해당한다. 건조중량을 알기 위해서 습윤 균사체중량 100mg에 해당하는 균체를 미리 평량한 평량병에 넣어 80°C에서 항량이 될 때까지 건조한다.

(3) 탄수화물의 표준 검량 곡선작성

Anthrone 2g을 재증류수 75ml와 농황산(G.R.) 950ml에 녹여 anthron시약을 만든다. 표준당(glucose, trehalose, G.R.) 용액 1.0ml를 경질시험관(2.5cm×15cm)에 넣고 증류수로 3.8ml를 만든다. 잘 섞은 후 Anthrone시약 8.2ml를 50ml뷰렛으로부터 시험관의 가장자리로 흘러들게 한다. 이 때에 Anthrone시약의 점성 때문에 뷰렛의 직경은 커야 한다. 시험관의 가장자리를 손으로 잡고 7초간 조용히 흔든다. 10분간 방치후 흐르는 수도물에서 5분간 냉각시킨 후 620nm 파장으로 광전 분광 광도계로서 흡광도를 측정한다. 총 탄수화물양은 글루코즈 표준곡선, trehalose양은 trehalose 표준곡선에 의하여 glucose와 trehalose의 농도($\mu$g/ml)로 표시하였다.

## 實驗結果

**1. Czapeck-Dox배지에서의 포자형성 상황**

포자접종으로부터 포자발아, 균사성장, 정낭, 경자성장 및 포자형성까지의 분화과정을 12시간 간격으로 관찰하였다.

a. 진탕 배양 결과

진탕용 배지에 접종후 48시간 만에 발아 균사는 균일하게 성장하기 시작하였다(Plate 1 참조). 65시간 경과후 포자병이 발생하였다(Plate 2 참조). 그러나 포자형성은 일어나지 않았다.

b. 정치 배양 결과

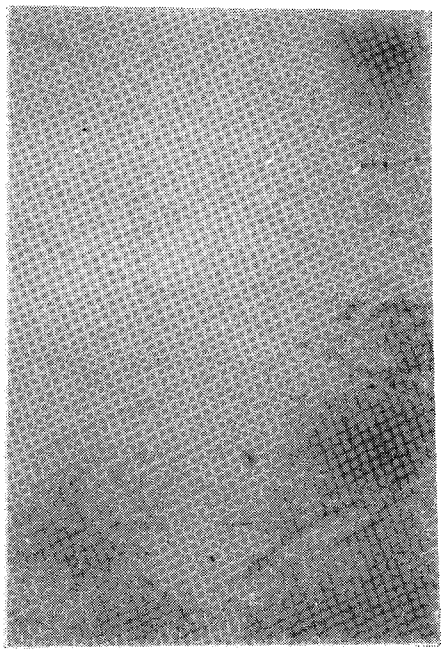
정치배양에서 80시간 경과후 경자가 형성되고 부분적으로 포자가 관찰되었다(Plate 3 참조). 90시간 후에 포자가 완전히 형성됨을 관찰하였다(Plate 4 참조).

**2. 포자형성에 따른 탄수화물량의 변동**

검정 곰팡이를 정치배양하여 균사, 포자병, 경자, 포자 형성을 시킬때 균체내의 총 탄수화물량은 포자형성시 1.5배 증가하였으며(Fig. 1), trehalose는 포자형성 직전에 증가하여 포자형성시에는 9.3배에 달하였다(Fig. 2). 성장단계에서는 총 탄수화물량은 균체의 33%에 해당했으나 포자형성시에는 51%에 달하였다. (Fig. 1). 한편 trehalose는 성장단계에서는 3.1%에 불과하였으나, 포자형성 직전에는 17%에 달했다(Fig. 2). 검정 곰팡이의 성장을 진탕배양에서 시킨 뒤에 포자형성을 정치배양에서 시켰을 때도 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 3, 4).

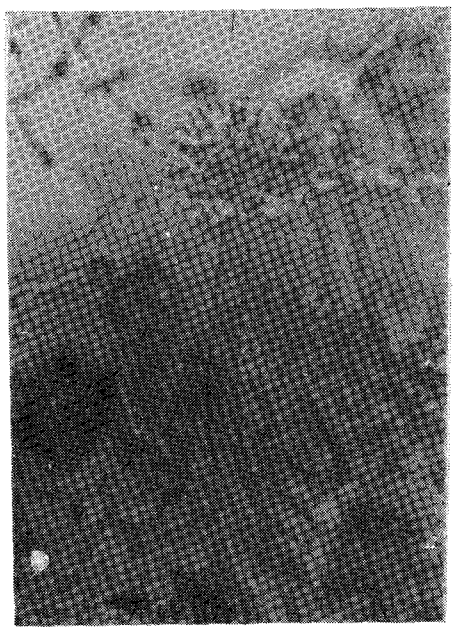
**3. 영양원의 제한에 따르는 탄수화물량의 변동**

배지내의 성분이 검정 곰팡이의 총 탄수화물량과 trehalose량에 미치는 영향을 검토하기 위하여 $NaNO_3$를 75%, 50%, 25%로 제한시켰을 때, 총 탄수화물의

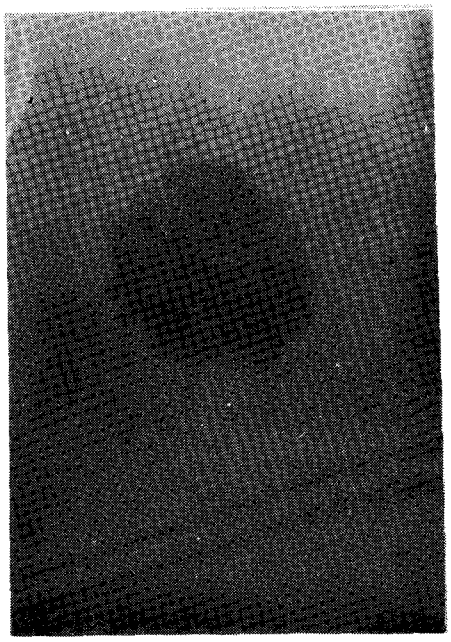


(Plate 1) Growing hyphae in shake culture.

(Plate 2) Vegetative hyphae & vesicle elongation in shake culture.



(Plate 3) Phialides are formed in surface culture.



(Plate 4) Spores are formed in surface culture.

함량은 기본배지에서의 균체에서 보다 1.2~1.8배 증가하였고(Fig. 5), trehalose 함량은 2.1~2.7배 증가하였다(Fig. 6). $K_2HPO_4$를 75%, 50%, 25%로 제한했을 때, 총 탄수화물의 함량은 1.2~1.6배 증가하였고(Fig. 7), Trehalose의 함량은 1.5~1.9배 증가하였다(Fig. 8). 배지의 글루코즈를 75%, 50%, 25%로 제한하였을 때는, 총탄수화물 및 trehalose의 함량은 변화하지 않았다(Fig. 9, 10).

## 考 察

포자형성에 수반되는 생화학적 변화들은 최근에 많이 연구되고 있으며, 상당한 부분은 규명되었다(Esposito, 1969, Forell, 1969). 이들 변화 가운데서 가장 극적인

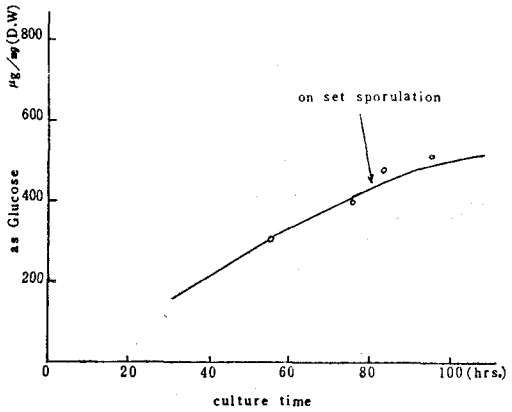



**Fig. 1.** Total carbohydrate accumulation during differentiation in *A. niger* on surface culture.

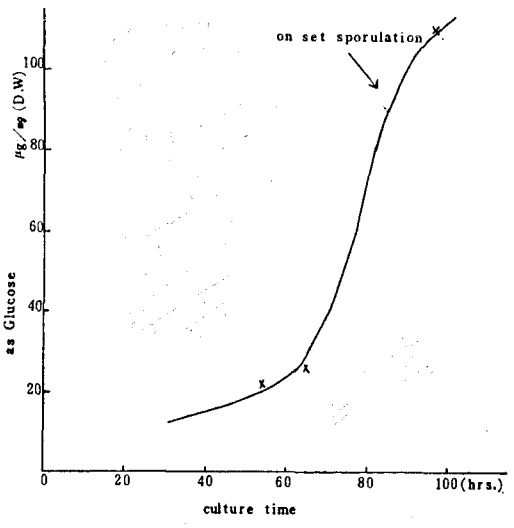



**Fig. 2.** Trehalose accumulation in *A. niger* during differentiation on surface culture.

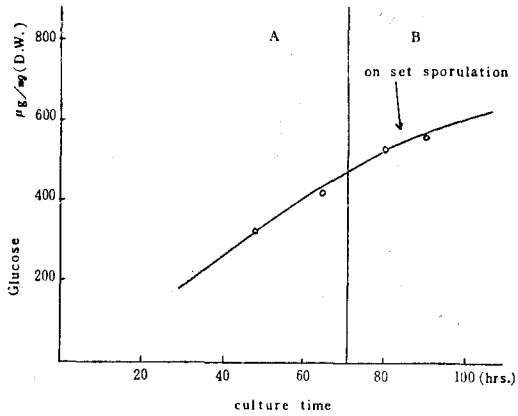



**Fig. 3.** Total carbohydrate accumulation in *A. niger* during differentiation.
A: Grown in shake culture.
B: Sporulated in surface culture.

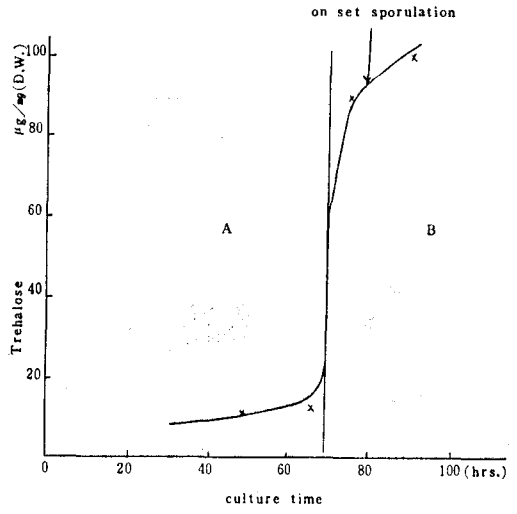



**Fig. 4.** Trehalose accumulation in *A. niger* during differentiation.
A: Grown in shake culture
B: Sporulated in surface culture.

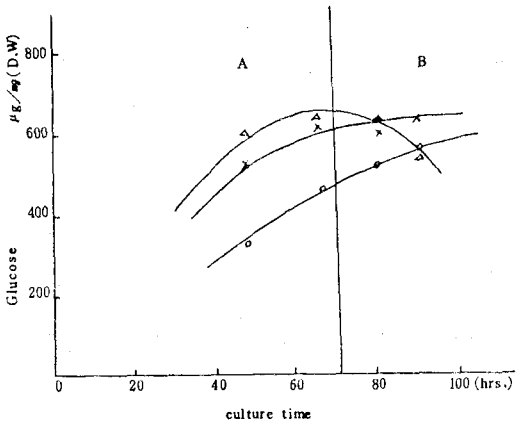



**Fig. 5.** Total carbohydrates accumulation in *A. niger* cultivated on nitrogen limited Czapeck-Dox medium.
O: Full medium
x: 50% $NaNO_3$
△: 25% $NaNO_3$
A: Grown in shake culture.
B: Sporulated in surface culture.

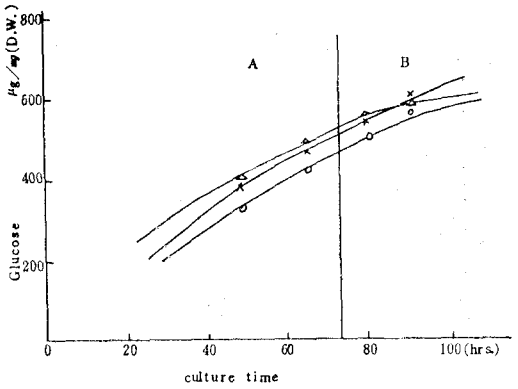



**Fig. 7:** Total carbohydrate accumulation in *A. niger* cultivated on P. limited Czapeck-Dox medium.
○: Full medium
×: 50% $K_2HPO_4$
△: 25% $K_2HPO_4$
A: Grown in shake culture.
B: Sporulated in surface culture.

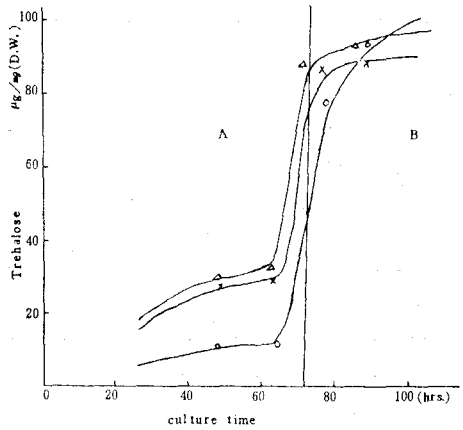



**Fig. 6.** Trehalose accumulation in *A. niger* cultivated on nitrogan limited Czapeck-Dox medium.
○: Full medium
×: 50% $NaNO_3$
△: 25% $NaNO_3$
A: Grown in shake culture.
B: Sporulated in surface culture.

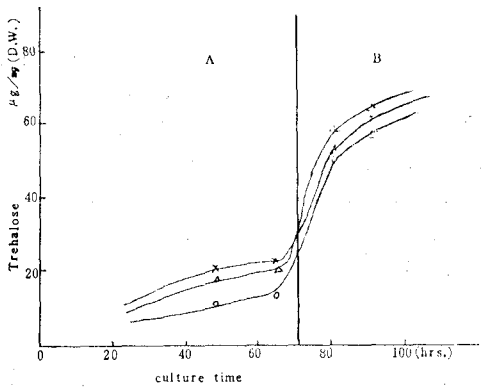



**Fig. 8.** Trehalose accumulation in *A. niger* in P. limited Czapeck-Dox medium.
○: Full medium
×: 50% $K_2HPO_4$
△: 25% $K_2HPO_4$
A: Grown in shake culture.
B: Sporulated in surface culture.

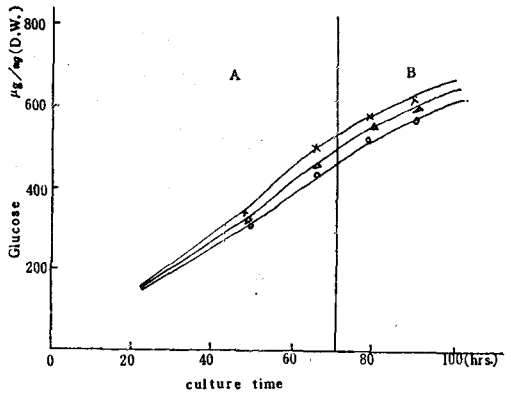



**Fig. 9.** Total carbohydrate accumulation in *A. niger* cultivated in glucose limited Czapeck-Dox medium.
○: Full medium
×: 50% glucose
△: 25% glucose
A: Grown in shake culture.
B: Sporulated in surface curture.

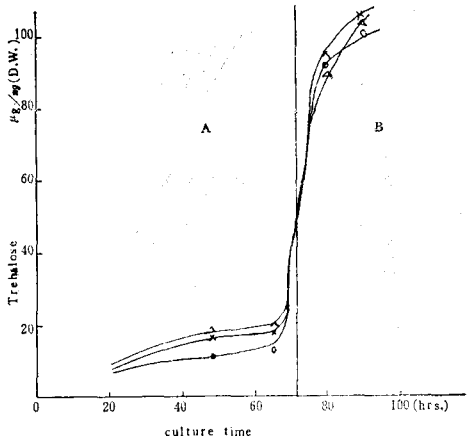



**Fig. 10.** Trehalose accumulation in *A. niger* cultivated on glucose limited Czapeck-Dox Medium.
○: Full medium
×: 50% glucose
△: 25% glucose
A: Grown in shake culture.
B: Sporulated in surface culture.

변화의 하나는 Croes(1967)에 의해 제시된 포자형성시의 건조중량의 상당한 증가인데, 그 중량증가 원인 물질에 대한 규명이 진행되고 있다.

Roth(1969)는 *Saccharomyces cerevisiae*의 포자형성에서 세포분열없이 건조중량이 증가하는데 이 건조중량 증가의 67%는 trehalose와 불용성 물질을 포함한 판수화물에 기인함을 밝혔다. Trehalose는 가수분해하여 glucose로 되는 2당체인데, Trevelyan과 Harrison (1956)은 효모로부터 trehalose를 선택적으로 추출하는 방법을 개발하였다. 전 세포는 TCA(trichloroacetic acid)에 용해되는 부분과 불용성 부분으로 분획된다. 불용성 부분은 세포벽의 구성분과 glycogen이고 용해되는 부분은 trehalose이다.

검정 곰팡이의 분화에 따르는 총 탄수화물량과 trehalose량의 축적을 본 연구에서 관찰한 바 총 탄수화물은 분화에 따라 약간씩 증가하여 포자형성시 균체의 총 판수화물량은 영양균사체인 균사에 비해 1.5배 증가하였다. Trehalose는 성장단계인 영양 균사체에는 극히 소량 함유되고 있었으나, 포자형성 적전에 급격히 증가하여 9.3배에 달하게 된다. Trehalose의 양은 성장단계 균사체에서는 총 탄수화물의 3.7%에 불과했으나 포자형성 균사체에서는 17%에 달하였다.

Trehalose는 효모를 비롯하여 *Neurospora* 및 많은 균류의 포자에 축적되어 있는 것으로 알려지고 있다. Sussman(1959)은 *Neurospora tetrasperma*에서 휴식세포가 활성화되면 호흡속도가 20배로 증가하며, 이때 trehalosese가 소멸되는 것으로 보아 휴식세포는 지방을 호흡기질로 이용하는 반면, 활성화된 세포는 trehalose를 이용하는 것으로 추론하였다.

*Dictyostelium discoideum*에서 trehalose는 포자발아시 에너지원의 역할을 하는 것으로 알려졌다(Wright and Killick, 1975).

본 실험에서 사용한 검정 곰팡이의 배지인 Czapeck-Dox배지의 질소원을 제한하였을 때 검정 곰팡이의 균사체의 총 판수화물과 trehalose함량이 증가하는 것을 볼 수 있다(Fig. 5,6).

영양효모에서의 trehalose대사와 포자형성시의 급격한 trehalose 축적을 설명하는 기구는 Avigad (1960). 에 의해서 제시되었다. Trevelyan과 Harrison(1956)은 동화될 수 있는 질소원이 없을 때는 trehalose가 합성된다고 밝혔다. 세포분열이나 성장이 중지되었을 때는 질소원이 있어도 trehalose생합성이 일어날 수 있다 (Panek, 1962). 이때 아미노산 합성과 trehalose합성을 위한 공통의 중간 대사물인 glucose-6-phosphate를 위한 경합이 일어나므로 아미노산 생합성이 되지 않으면 trehalose는 그 중간 대사물인 G-6-P로부터 급격

히 합성된다는 것이다. Transaminase를 저해하는 INH의 존재하에서의 trehalose생성은 질소와 trehalose 대사 사이의 경합의 또 하나의 증거가 된다(Panek, 1962). Cabib와 Leloir(1958)는 효모의 추출물에서 Uridine phosphate glucose(UDPG)와 glucose-6-phosphate(G-6-P)가 중합하여 중간물질인 trehalose phosphate를 생성하고 이것이 가수분해하여 trehalose와 무기인산으로 됨을 보고하였다. 이러한 trehalose합성효소 기구는 성장세포와 휴식세포 양쪽에 다 있음으로 성장세포에서 trehalose가 많이 합성되지 않는 것은 trehalose합성기구의 부재에 있는 것이 아니라 아미노산 합성과 trehalose합성대사의 공통 중간대사물인 G-6-P에 대한 경합에 있다고 볼 수 있으며 경합의 스윗치는 유전인자의 발현작용(gene expression)에 의해서 좌우될 것이다.

Wright와 Killick(1975)은 *Dictyostelium*의 분화에 따르는 trehalose대사연구에서 trehalose가 분화에 따라 급격히 증가하며 대사의 주된 최종산물중의 하나라고 밝혔다. 이때 trehalose합성에 관여하는 효소의 변화를 번역과 전사의 차원에서 거론하였다.

생화학적 분화는 광범한 의미로는 어떤 특정한 시기에 한 물질이 세포내에 일정한 양으로 축적되는 과정이라고 정의할 수 있다(Wright, 1978). 검정 곰팡이의 포자형성 단계에서 trehalose가 극적으로 증가하는 것은 이의 합성에관여 하는 효소합성에 기인된다고 생각된다. 그러나 이 효소의 합성이 분화에 특이한 것인지 앞으로 규명하여야할 점이다.

## 要 約

검정 곰팡이의 분화에 따른 균체내의 총 탄수화물 및 trehalose의 함량변화를 연구하였다. 검정 곰팡이를 Czapeck-Dox액체배지로서 진탕배양과 정치배양법에 의해 배양하여 검정 곰팡이의 각 분화과정에서의 균체내의 총 탄수화물 및 trehalose함량을 Trevelyan 및 Harrison(1955)의 판수화물분화 및 정량법에 의해 측정하였다.

검정 곰팡이가 포자를 형성할 때에 총 탄수화물의 양이 증가하였고 trehalose는 특히 포자형성 직전에 극적으로 증가하였다. 또한 배지내의 성분함량의 결핍에 따른 탄수화물량의 변화를 연구하기 위해 본 실험에 사용된 Czapeck-Dox 배지내의 질소원, 인산원, glucose 등의 함량의 제한시 검정 곰팡이 분화과정의 각 단체에서의 탄수화물 및 trehalose함량 변화를 실험하였다. 질소원의 함량을 제한할 때, 총 탄수화물과 trehalose양이 기본 배지에서 배양했을 때보다 증가하였다. 인산원 제한시도 총 탄수화물과 trehalose양이 증가하였으나, 질소원 제한 배지에서 배양했을 때 보다는 뚜렷하지 못했다. 글루코즈 함량제한시는 총 탄수화물 및 trehalose양의 변동을 관찰할 수 없었다. 이들 총 탄수화물 및 trehalose의 함량변동은 검정 곰팡이의 분화와 관련성이 있는 것으로 해석된다.

## References

Avigad, G. (1960): Accumulation of trehalose and sucrose in relation to the metabolism of α-glucosides in yeast of defined genotype. *Biochim. Biophys. Acta* **40**. 124.

Belhal, F.J. & R. Eakin (1959): Metabolic Changes accompanying the inhibition of spore formation in *A. niger*. *Arch. Biochem. Biophy.*, **82**, 448.

Birch, G.G. (1963): Trehalose. *Advan. Carbohyd. Chem*, **19**, 201.

Britten, R.J. & Davidson E.H. (1969): Gene regulation for higher cells: A theory. *Science.* **165**, 349.

Cantino, E.C. (1961): The relationship between biochemistry and morphological differentiation in nonfilamentous aquatic fungi. *Sym. Soc. Gen. Microbiol.* **11**. 243.

Cochrane V.W. (1976): Glycolysis, In *the filamentous fungi*. vol. II. edited by J.E. Smith & D.R. Berry. London.

Croes, A.F. (1967): Induction of meiosis in yeast, timing of cytological and biochemical events. *Planata Arch. Wiss Bot.* **76**, 209.

Dreywood, R. (1946): Qualitative test for carbohydrate material. *Ind. Eng. Chem.* **18**, 499.

Esposito, M. & R.E. Esposito (1969): The genetic control of sporulation in *Saccharomyces. Gemetics*, **61**, 79.

Forell, R.R. (1969): Sporulation and hybridization in yeasts. *The yeasts.* Vol. 1.

Gottlieb, D. (1966): Biosynthetic Processes in germinating spores. In *the Fungus Spore*, ed. M.F. Madelin, 217.

Kim, J.H. (1978): Biosynthesis of the extracellular enzyme in *de novo* during the differentiation of

*Aspergillus niger. Kor. J. Mycol.* **6**, 1.

Kotry, R.A.R. (1970): Physiological studies on production of amylase by *Aspergillus oryzae* in batch and continuous cultivation, Ph. D. Thesis, Uni. of Strath Clyde, Glasgow.

Lloyd, G.I., J.G. Smith, J.E. & Morris, E.O.(1972): Conidiation and esterase synthesis in *Aspergillus niger. Transaction of the British Mycological Society*, **59**.

Lotka, A.J. (1956): *Elements of mathemathematical biology*, New York; Dover Publications, Inc.

McCromick, D.B. & Snell, E.E. (1959): *Proc. Natl. Acad. Sci* **45**, 1371.

Nagasaki, S. (1968): Cytological and physiological studies on phosphatases in developing culture of *Aspergillus niger. of General and Appl. Microbiol.* **14**, 147.

Nagasaki, S. (1968b): Physiological aspects of various enzyme activities in relation to the culture age of *Aspergillus niger* mycelia. J. of General and Appl. Microbiol., **14**, 263.

Panek, A. (1962): Synthesis of trehalose by Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) *Arch. Biochem. Biophy.* **98**, 349.

Pasternak C.A. (1970): *Biochemistery of differentiation.* Wiley-Interscience, London.

Roth. R. (1969): Carbohydrate Accumulation During the Sporulation of Yeast, J. of Bacteriol. Jan. **53**.

Smith, J.E. & Anderson, J.G. (1973): Differentiation in the Aspergilli.*Symposium, Society of General Microbiology.* **23**, 295.

Sussman, M. (1967): Evidence for temporal and quantitative control of genetic transcription during slime mold development. *Fed. Proc.* **26**, 1.

Trevelyan, W.E. & Harrson, J.S. (1955): Studies on yeast metabolism. *Biochem. J.* **63**, 23.

Trevelyan, W.E. & J.S. Harrison (1956): Studies on yeast metabolism, 5. The trehalose content of Baker's yeast during anerobic fermentation. *Biochem. J.* **62**, 177.

Turian, G. & Bianchi, D.E. (1972): Conidiation in *Neurospora. Botanical Review.* **38**, 119.

〈Received November 20, 1982〉