

Note

Q₁₀ 함유 광합성세균의 반응특성

정수경 · 김중균*

부경대학교 식품생명공학부

Reaction Characterization of a Photosynthetic Bacterium Containing Q₁₀.
Soo Kyoung Jeong and Joong Kyun Kim*. *Department of Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

Abstract Cultivation of a Q₁₀-producing photosynthetic bacterium, *Rhodobacter sphaeroids*, was carried out in a 1-L flask to characterize its cellular growth reaction. The result of experiment showed that dissolve oxygen in the broth was depleted within 7 h. ORP decreased with decrease of DO, and recovered somewhat with increase of pH. The growth of *R. sphaeroids* reached at late-log phase in 140 h of reaction. The final pH and dry-cell weight were 7.62 and 2.2 mg/mL, respectively. The Q₁₀ content in the final broth was 2.35 mg/g dry cell weight, which was higher than that obtained in tube culture.

Key words : Photosynthetic bacterium, ubiquinone(Q₁₀), characterization, *Rhodobacter sphaeroids*

유비퀴논(Ubiquinone)은 생체 내의 산화환원반응에 관여하는 전자전달물질의 하나로서 세포들이 필요로 하는 생체 에너지(ATP)가 잘 생성되도록 돕는 생물체에 상존하는 보조효소이며 coenzyme Q라고도 한다. Coenzyme Q는 CH₃O기를 2,3-위치에 가지는 벤조퀴논 유도체로서, 세포의 미토콘드리아에 다량으로 함유되어 있다 [2,8]. 인체의 경우 coenzyme Q 중 Q₁₀이 대부분을 차지하며, 활동을 많이 하는 기관인 심장, 폐, 간, 잇몸 등에 많이 분포되어 있다 [6]. 지용성 물질인 coenzyme Q는 20대까지는 왕성하게 만들어지다가 40대부터는 점점 생산량이 적어지고 노화가 시작되면서 coenzyme Q를 많이 필요로 한다. 또한, Q₁₀은 항산화 비타민 E가 기능을 할 수 있도록 도와주고, 눈 주변의 주름 등 피부 노화 억제, 미백 효과를 나타내는 것으로 알려지고 있다 [4]. Coenzyme Q는 처음에는 심장과 관련된 질병과 유방암 등에 많이 적용하여 사용되어 왔으나, 지금은 응용범위가 광범위해져 고혈압, 동맥경화, 당뇨 등 대사증후군의 질환에도 사용되고 피부노화가 진행되는 것을 막아 주므로 기능성 화장품에도 널리 적용

되고 있는 생체 내에서 합성되는 대사 물질이다. 향후 웰빙시대를 맞이하여 Q₁₀의 경제적 수요와 가치가 증가하면 고품량 Q₁₀의 대량생산은 필수적이며, 그 산업적 가치는 매우 높을 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 1 L 용량의 5-neck flask를 사용하여 Q₁₀를 함유하는 *Rhodobacter sphaeroids* 광합성세균의 반응 특성을 알아보았다.

본 연구에 사용한 광합성 세균은 낙동강하구에서 채취한 샘플로부터 순수 분리한 것으로 16S rDNA sequencing을 통해 동정 결과 *Rhodobacter sphaeroids* 균주이었다. 이 균주의 반응특성을 조사하기 위해 Fig. 1과 같이 1 L 용량의 5-neck flask를 이용하였다. 먼저 600 ml의 배지에 광합성세균을 10% (v/v)로 접종하여 30°C, 180 rpm 및 50 lux 조건에서 배양하였다. 이때 사용된 배지 (pH=6.8)의 조성은 다음과 같았다: 0.5 g K₂HPO₄, 0.5 g KH₂PO₄, 2.7 g DL-malic acid; 0.8 g ammonium phosphate; 3.76 g MSG; 1 g tryptone; 2 g yeast extract; 및 2.1 ml trace element. 광합성세균의 성장과 함께 변하는 ORP, DO 및 pH 값을 실시간으로 측정하였고, UV-spectrophotometer

* Corresponding author

Phone: +82-51-629-5866, Fax: +82-51-629-5863

E-mail: jkkim@pknu.ac.kr



Fig. 1. Apparatus of a 5-neck flask.

를 사용하여 채취한 샘플을 660 nm에서 OD를 측정하여 건조세포 중량 (dry cell weight)와의 관계식을 이용하여 그 양을 측정하였다.

배양 최종액 중의 Q₁₀ 함량을 확인하기 위하여 5 ml의 최종 배양액으로부터 얻은 cell pellet에 3.3 ml methanol로 처리한 후, 55°C에서 5분간 heating시키고 난 다음, 6.6 ml chloroform을 첨가하고 30°C에서 20분간 혼합시켰다. 20분 반응 후에 Whatman No.1 filter paper를 이용하여 여과하여 튜브에 담고 여과된 액에 0.58% saline을 5:1 비율로 첨가하면 2개의 상이 생기는데 아래층에 Q₁₀이 추출된 상이 존재한다. 상층의 대부분을 버리고 난 후 25°C evaporator를 이용하여 건조시키고, Q₁₀의 HPLC 분석을 위하여 튜브에 남아 있는 나머지를 1 ml의 ethanol에 녹인 후 HPLC로 분석하였다 [5,9]. HPLC 분석에는 C18 reverse-phase column을 사용하였고, 이동상은 ethanol (flow rate: 1 mL/min)로 하여 275 nm에서 측정하였다 [1].

Q₁₀을 생산하는 광합성세균, *R. sphaeroids*의 성장에 따른 반응특성을 5-neck flask에서 알아 본 결과 Fig. 2와 같았다. 처음 7 mg/L이었던 용존산소 (DO)는 반응 4시간에 0.1 mg/L로 떨어졌고, 반응 7시간 이내에 다 소모되었다. 광합성세균의 성장반응이 지속될수록, pH는 초기 10여 시간 동안에는 6.69로 감소하였으나, 이후 증가하여 최종 pH는 7.62를 나타내었다. ORP는 초기 123 mV에서 시간이 지남에 따라 점차적으로 감소하여 반응 7시간 안에 -값을 나타내었고, 반응 23시간 이후에는 다소 증가하여 최종값은 -30.6 mV 이었다. ORP의 값은 반응기 내에 용존하는 산소농도에 영향을 받기 때문에 반응기 내

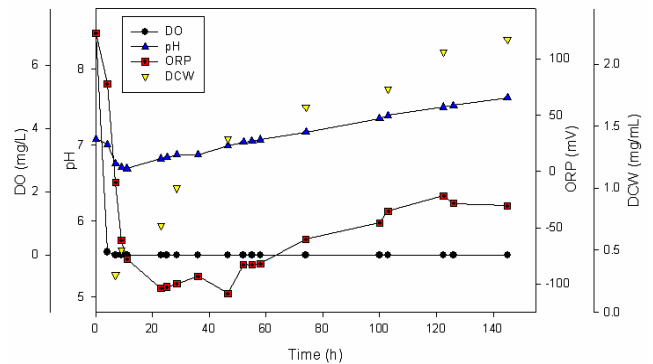


Fig. 2. Changes of various parameters during the culture of *R. sphaeroids*. DO (●); pH (▲); ORP (■); and dry cell weight (▼).

의 DO가 감소하면 ORP의 값도 감소하여 -값을 띠게 되고, pH의 값이 증가하게 되면, ORP의 값도 증가하게 된다 [3]. 건조세포 중량 값은 반응 140시간까지 계속 증가하여 최종 2.2 mg/mL의 값을 나타내었고, 이때 세포의 성장이 거의 late-log phase에 도달한 것으로 보인다. 반응 140시간의 최종 배양액 중에 광합성세균 세포 내에 함유하고 있는 Q₁₀의 농도를 측정된 결과 건조세포 중량 당 2.35 mg 이었다. 이 값을 tube 배양에서 얻었던 1.55 mg/g dry cell의 값과 비교하면, Q₁₀의 함량이 증가되었는데, 이 같은 결과는 *Rhodobacter sulfidophilus* 균주를 사용한 Sakato et al. (1992) [5] 및 Yen and Chiu (2007) [7]의 연구에서도 찾아 볼 수 있다. 따라서, 광합성세균의 배양조건에 따라 Q₁₀의 함량을 증가시킬 수 있음을 알 수 있었고, 향후 배양조건을 최적화를 통한 고품량 Q₁₀ 생산에 관한 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 마린바이오21사업의 해양 바이오프로세스연구단 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

참고 문헌

- Karpińska, J., Mikołuc, B., Motkowski, R. and Piotrowska-Jastrzębska J. 2006. HPLC method for simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and coenzyme Q10 in human plasma. *J. Pharm. Biomed Ana.* **42**, 232-236.
- Kawamukai, M. 2002. Biosynthesis, bioproduction and novel roles of ubiquinone. *J. Biosci. Bioeng.* **94**, 51-57.

3. Kim, J. K. and Lee, G., 2008. Aerobic biodegradation of fish-meal wastewater from lab to large scale. In: B. Y. Wang (ed). *Environmental Biodegradation Research Focus*. Nova Science Publisher, NY, USA.
4. Muzzarelli, R., Littarru, G., Muzzarelli, C. and Tosi, G. 2003. Selective reactivity of biochemically relevant quinones towards chitosans. *Carbohydr. Polymer*. **53**, 109-113.
5. Sakato, K., Tanaka, H., Shibata, S. and Kuratsu, T. 1992. Agitation-aeration studies on coenzyme Q10 production using *Rhodopseudomonas sphaeroides*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **16**, 19-28.
6. Urakami, T. and Yoshida, T. 1993. Production of ubiquinone and bacteriochlorophyll a by *Rhodobacter sphaeroides* and *Rhodobacter sulfidophilus*. *J. Ferment. Bioeng.* **71**, 191-194.
7. Yen, H.-W. and Chiu, C.-H. 2007. The influences of aerobic-dark and anaerobic-light cultivation on CoQ10 production by *Rhodobacter sphaeroides* in the submerged fermenter. **41**, 600-604.
8. Yoshida, H., Kotani, Y., Ochiai, K. and Araki, K. 1998. Production of ubiquinone-10 using bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **44**, 19-26.
9. Zhang, D. and Shrestha, B. 2007. Phenotypes and fed-batch fermentation of ubiquinone-overproducing fission yeast using ppt1 gene. *J. Biotechnol.* **128**, 120-131.