

Bornyl acetate의 생물학적 변환

모노테르페노이드는 C10의 이소프레노이드 골격을 가지는 천연 유기화합물을 총칭한다. 이들은 고등식물, 조류, 곰팡이에 주로 분포하며, 심지어 특정 곤충이나 동물에서도 생합성된다고 알려져 있다. 모노테르페노이드는 친유성 또는 소수성 및 휘발성을 띠고 있어, 유기체로부터 용매추출이나 수증기 증류를 통해 얻을 수 있다. 화학적으로 다양한 구조를 가질 수 있으며, 이는 모노테르페노이드로 하여금 특유의 향과 맛을 가지게 한다. 산업에서는 이러한 특성을 이용하여 화장품(fragrance)이나 식품첨가제(flavor) 등의 원료로 활용하고 있다. 그러나 자연에서 생산되는 천연추출로는 기능성 모노테르페노이드의 공급을 모두 충족시키기 어려운 실정이다. 요즘에는 값싸게 합성할 수 있는 원료에 다양한 화학반응 및 미생물을 이용한 생물학적 변환을 적용하여 원하는 물질을 생산 및 공급하고 있다.

Bornyl acetate는 편백나무 또는 소나무를 수증기 증류하여 얻을 수 있는 정유 속에 높은 함량으로 존재하는 모노테르페노이드이다. 이번 실험에서는 목재부후균인 *Stereum hirsutum*을 이용하여 bornyl acetate를 변환시켜 보고, (1) 생물학적 변환과 화학반응과의 차이, (2) 생물학적 변환 기작 및 (3) 변환 산물의 동정에 대한 고찰을 하고자 한다.

1. Materials

Fungus: *Stereum hirsutum*

Medium for sub-culture: potato dextrose agar (PDA) medium

Substrate: (-)-endo-bornyl acetate

Medium: modified shallow stationary culture (SSC) medium

(1% glucose, 0.02% ammonium tartrate, 0.2% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Equipment: autoclave, homogenizer, rotary incubator, clean bench, funnel shaker, rotary evaporator, GC/MS

2. Methods

- (1) PDA 배지에 *S. hirsutum*을 접종하고, 배지를 충분히 덮을 만큼 28°C 정치조건에서 10일간 계대배양한다.
- (2) 충분히 자란 균사체를 배지에서 분리하고, 멸균수를 첨가한 후 homogenizer로 균질화한다.
- (3) 균사체 현탁액 1 mL에 포함된 전건 균사체의 질량을 측정한다. (0.0133 g 전건 균사체/mL 현탁액)
- (4) 준비한 100 mL의 SSC 배지에 균사체가 0.02 g 접종되도록 현탁액을 넣고, 28°C 80 rpm조건에서 3일간 선배양한다.
- (5) 선배양을 마친 *S. hirsutum* 배양액에 기질을 20 μL 첨가한다.
- (6) 시간에 따라 변환 산물을 추출하여 GC/MS로 분석한다.

‡ 추출 방법

- (1) 분별깔때기에 균사체를 포함한 배양액 전체와 ethyl acetate 50 mL를 담는다.
- (2) 충분한 양의 sodium chloride를 넣어 포화시키고, funnel shaker로 흔들어 준다.
- (3) 아래층(물과 균사체)과 위층(ethyl acetate와 변환 산물)을 분리한다.
- (4) 먼저 받은 분획(아래층)으로 위 과정을 2회 더 반복한다. (Sodium chloride 첨가 제외)
- (5) Sodium sulfate로 여분의 물을 제거한다.
- (6) Rotary evaporator로 농축하고, 샘플링한다.

§ Report

※ Report should be written by MS words (10 points, line spacing 1) or Hancm office (10 points, line spacing 120)

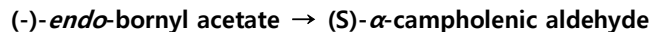
※ Report must be taken in the following order (in Korean or English): 1. Introduction, 2. Materials and Methods, 3. Results and Discussion, 4. Conclusions, 5. References

※ Please define terpenoid and show its biosynthesis pathway. And briefly assort various type of terpenoid compounds in terms of mono-, di-, sesqui- and so on.

※ Among following three questions, choose only one to answer it for your assignment

(1) Please describe advantages and drawbacks of the biotransformation in comparison with the traditional chemical process.

(2) Please propose a mechanism for the following bioconversion reaction.



(3) Please describe the solution for identification of unknown monoterpenoid metabolite of which mass spectrum does not match MS library database.

※ Assignment should be appended to report. (If you copy and paste it, you can not get a grade)

※ Inquires: ① Wood Chemistry Lab (6203) Seong-Min Cho, ② csmin93@snu.ac.kr ③ 010-6623-5449