

2025년 9월 20일(토) 10:00-13:00

광운대학교 80주년 기념관 310호

제25회 한국화학공학회 생명공학경시대회(LG화학 후원)

= 정답지 =

총 5과목 중 3과목 선택

(응용미생물, 분자생물학, 효소공학, 생물분리 및 정제, 배양 및 생물반응공학)

**제25회
생명공학
경시대회
(LG화학후원)**

대회일시
2025년 9월 20일(토)
10:00~13:00

참가대상
생물화공 및 생명공학
관련 학부/학과 재학생

☒ **대회장소**
광운대학교 80주년기념관 310호

☒ **접수방법**
참가 신청 링크에서 신청서 작성

☒ **접수마감**
2025년 9월 9일(화) 23:59

☒ **주최/후원**
주최 : 한국화학공학회
후원 : LG화학

☒ **시상내역**

구분	수상	수상내역
금상	1명	100만원 및 상장
은상	2명	70만원 및 상장
동상	3명	50만원 및 상장
장려상	20명	10만원 및 상장

※기타 자세한 사항은 학회 홈페이지 참조

제25회 한국화학공학회 생명공학 경시대회(LG화학 후원)
(응용미생물학 부문)

학교 명 : _____ 이름 : _____

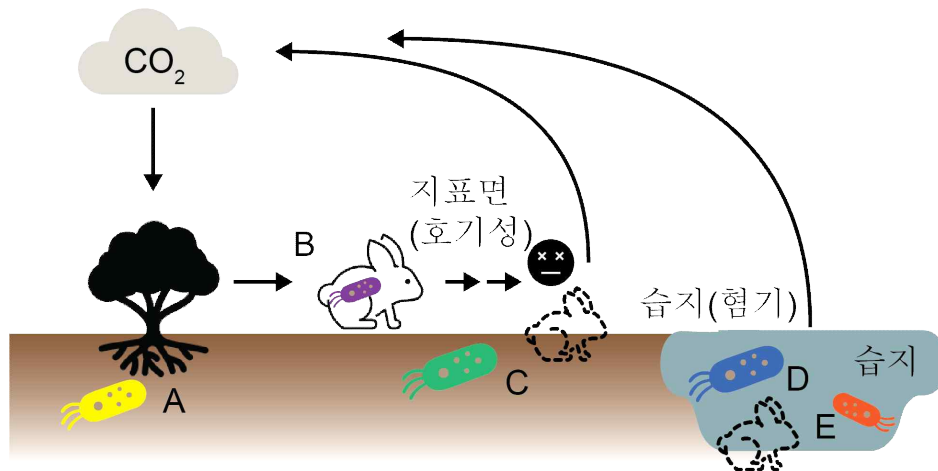
(공간이 부족하면 시험지 뒷면을 이용하세요.)

[1] 미생물 중 박테리아는 원핵생물에 해당한다. 박테리아의 대표적인 대장균의 길이로 가장 적절한 것은? [5점]

- ① 1 nm ② 10 nm ③ 100 nm ④ 1 μm ⑤ 10 μm ⑥ 100 μm ⑦ 1 mm

정답: ④

2. 지구내에서 탄소 원자는 다양한 형태로 이동되고 변환되는데, 이 과정에서 미생물이 핵심적인 매개자 역할을 한다. 아래 그림은 이산화탄소의 유기물(식물)로의 고정, 호기적 및 혐기적 유기물의 분해에 이르는 과정에서 필요한 미생물의 주요 역할에 대하여 각각에 대하여 설명하시오. [각 5점, 총 25점]



[2-1] A: 대기중의 이산화탄소는 식물에 의해 고정되는데, 토양의 미생물은 식물의 성장을 촉진하는 물질을 만들어 식물에게 공급하거나 식물 병원균으로부터 보호한다.

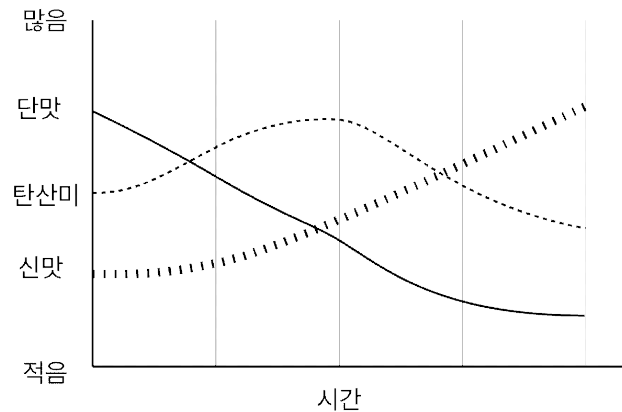
[2-2] B: 동물의 장내 미생물은 식물을 구성하는 성분의 분해를 도와 동물이 잘 소화할 수 있도록 돕는다.

[2-3] C: 동식물이 죽고나면, 미생물들이 분해하여 이산화탄소로 방출한다.

[2-4] D: 동식물이 죽고나면, 산소가 없는 조건에서는 고세균에 의한 혐기성소화반응이 일어나 메탄으로 전환된다.

[2-5] E: 혐기성소화작용에 의해 생성된 메탄을 메탄영양생물에 의해 대사되어 이산화탄소로 전환된다.

- [3] 막걸리는 쌀을 원료로 하여 누룩과 물을 넣고 발효시켜 만드는 전통주이다. 누룩 속 곰팡이(*Aspergillus*, *Rhizopus* 등)는 전분을 포도당으로 분해하고, 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)는 이를 이용해 에탄올과 CO₂를 생성한다. 이렇게 만들어진 막걸리는 시간에 따라 맛이 변화하는데, 일반적으로 아래 그림과 같다. 왜 이러한 변화가 나타나는지, (1) 단맛, (2) 탄산미, (3) 신맛에 대하여 미생물의 대사과정을 위주로 설명하시오. [각 10점, 총 30점]



- [3-1] 단맛: 미생물이 시간에 따라 포도당을 소모하여 발효를 일으키므로, 단맛은 지속적으로 감소한다.
- [3-2] 탄산미: 발효과정이 지속됨에 따라 부산물로 이산화탄소가 발생하며, 막걸리속의 탄산은 증가하게 된다. 후반부에는 포도당이 줄어 탄산 생산량이 줄어들게 된다.
- [3-3] 신맛: 시간이 지남에 따라 에탄올은 아세트산으로 전환되며, 이에 산미가 증가한다.

- [4] 마이크로바이옴(microbiome)은 특정 환경에 서식하는 미생물 집단과 그들의 유전정보를 통칭하며, 숙주나 환경의 대사, 면역, 생태계 기능 유지에 중요한 역할을 한다. 최근에는 차세대염기서열분석(NGS) 기술을 이용하여 인간 장내의 마이크로바이옴을 분석하고 이를 건강 증진에 활용하고 있다. 일례로서 만성 염증성 장질환을 가지고 있는 환자들에게 마이크로바이옴을 기반으로 한 치료 전략이 활용되고 있는데, 이를 원리와 함께 설명하시오. [10점]

정답: 염증성 장질환을 가지고 있는 환자들의 마이크로바이옴을 분석하여, 유익균 및 유해균의 양상을 분석해볼 수 있고, 유해균 억제를 하기 위하여 프로바이오틱스 및 프리바이오틱스 복용을 권유한다. 또한 건강한 사람의 미생물 군총을 이식하는 분변미생물이식 (Fecal Microbiota Transplantation) 또한 치료 방법으로 사용되고 있다.

[5] 미생물은 산소의 유무에 따라 호흡과 발효과정이 조절된다. 이와 관련하여 올바른 표현에는 “○”, 틀린 표현에는 “×” 표시하시오. [각 3점, 총 30점]

[5-1] 호기성 호흡은 산소를 최종 전자수용체로 사용한다. (○)

[5-2] 혐기성 호흡은 산소가 전혀 없는 조건에서만 일어난다. (×) – 질산염, 황산염 등을 전자수용체로 사용 가능.

[5-3] 발효는 전자전달계를 거치지 않고 ATP를 생성한다. (○)

[5-4] 발효에서는 기질수준 인산화(substrate-level phosphorylation)가 ATP 생성의 주된 경로이다. (○)

[5-5] 일부 미생물은 산소가 있을 때 발효를, 없을 때 호흡을 수행한다. (×)

[5-6] 호기성 호흡은 발효보다 ATP 생성 효율이 높다. (○)

[5-7] 발효의 최종 산물은 항상 에탄올과 CO₂이다. (×) – 젖산, 혼합산, 부티르산 등 다양함.

[5-8] 발효를 수행하는 미생물은 항상 산소에 민감하게 죽는다. (×) – 통성혐기성 미생물은 산소 존재하에서도 생존 가능.

[5-9] 발효 과정에서는 NADH가 전자전달계를 거쳐 산화된다. (×) – 발효에서는 유기 분자가 전자수용체로 작용.

[5-10] 일부 미생물은 동일한 기질에서 호기·혐기 조건에 따라 서로 다른 발효 산물을 만든다. (○) – 대사 경로 선택이 환경에 따라 다름.

제25회 한국화학공학회 생명공학 경시대회(LG화학 후원)

(분자생물학 부문)

학교명 : _____ 이름 : _____

(공간이 부족하면 시험지 뒷면을 이용하세요.)

[1] 산업용 미생물을 이용하여 고부가가치 대사산물을 경제적으로 생산하려면 균주의 유전자 발현을 조절해야 한다. 특히 전사 개시 효율, 번역 개시 효율 등 전사 및 번역 단계의 효율을 조절하는 전략이 필요하다. 대장균 유전자의 발현 조절을 통해 대사산물 생산량을 극대화하려 할 때 다음 질문에 답하시오. [총 30점]

[1-1] 연구진은 전사 개시 효율을 높이기 위해 RNA 중합효소가 프로모터에 더 높은 강도로 결합하도록 프로모터 서열을 변형하려 한다. 박테리아 프로모터에서 RNA 중합효소와 결합하는 주요 부위의 명칭과 구조적 특징을 설명하고, RNA 중합효소의 결합이 전사 개시 효율에 미치는 영향을 설명하시오. [15점]

[풀이]

-10 element: 전사개시 지점에서 upstream 방향으로 10 nt 정도 떨어진 지점에 있는 요소로, A/T가 풍부하여 melting이 일어나기 용이하다. [6점]

-35 element: 전사개시 지점에서 upstream 방향 35 nt 정도 떨어진 지점에 있는 요소로, RNA 중합효소의 sigma subunit과 결합한다. [6점]

RNA 중합효소와 프로모터간의 결합 강도가 강할수록 전사 개시 빈도가 높아진다. [3점]

[1-2] 대사산물 생합성 유전자의 발현량을 증가시키기 위해 프로모터의 서열을 변형하여 RNA 중합효소와의 결합 강도를 최대한 증가시켰으나, 전사 개시 효율은 오히려 감소했다. 이런 현상이 발생하는 이유를 설명하시오. [5점]

[풀이]

전사 개시 과정이 완료되려면 프로모터에 결합했던 RNA 중합효소가 프로모터를 벗어나는 promoter escape(혹은 promoter clearance)가 일어나야 한다. 하지만 RNA 중합효소가 프로모터와 너무 강하게 결합하고 있으면 promoter escape가 일어나기 어려워 전사 개시 효율이 감소한다.

[1-3] 전사를 통해 생성된 mRNA의 5'-UTR(5'-untranslated region) 영역을 재설계하여 번역 개시 효율을 증가시키고자 한다. 5'-UTR이 번역 개시 효율에 미치는 영향을 고려하여 올바른 설계 원리를 서술하시오. [10점]

[풀이]

5'-UTR은 리보솜 결합 부위(ribosome binding site 또는 Shine-Dalgarno 서열)를 포함하고 있다. 번역 개시 효율 향상을 위해서는 Shine-Dalgarno 서열이 16S rRNA 서열과 상보적이어야 하며, 번역 개시 지점으로부터 적절한 위치에 있어야 한다. 또한, mRNA 2차 구조를 최소화할 수 있는 서열을 설계해야 하는데, 이때 발현시키려는 유전자의 5'-end 서열도 함께 고려하여야 한다. 리보솜 결합 부위 설명시 5점; mRNA 2차 구조 설명시 5점

[2] 환경 모니터링을 위한 현장 검출 기술로써 무세포 단백질 합성 시스템(cell-free protein synthesis) 기반 바이오센서가 각광받고 있다. 이 시스템은 살아있는 세포 대신 세포 추출물을 이용한 것으로, 유전자 회로의 작동을 통해 중금속, 항생제 등 오염물 검출이 가능하다. 바이오센서 유전자 회로는 목표 분자에 반응해 녹색형광단백질(green fluorescent protein, GFP) 등 리포터 유전자의 발현을 조절함으로써 측정 가능한 신호를 생산한다. 다음 질문에 답하시오. [총 40점]

[2-1] 바이오센서 유전자 회로에서 직접적인 분자간 결합을 통해 목표 물질을 감지하는 “센서”로 전사인자(allosteric transcription factor) 또는 리보스위치(riboswitch)를 활용할 수 있다. 각 경우에 대해 바이오센서 유전자 회로의 작동 원리를 그림으로 그리고 간단히 설명하시오. (목표 물질은 검은색 동그라미로 나타내고, 목표 물질이 존재하는 경우와 목표 물질이 존재하지 않는 경우로 나누어서 각각 그림을 그리시오) [20점]

[2-1-1] 전사인자 센서를 사용하는 경우 [10점]:

(목표 물질이 존재하지 않는 경우)

(목표 물질이 존재하는 경우)

[풀이]

목표 물질이 없는 경우: 전사인자 단백질; 프로모터; 전사인자 단백질 결합부위(operator); 리포터 유전자 등을 적절히 표시한 그림 [5점]

목표 물질이 있는 경우: 전사인자 단백질에 목표 물질이 결합; 전사인자 단백질의 구조가 변한 것을 표시함; 전사인자 단백질이 결합부위에 결합하였는지 여부가 목표 물질이 없는 경우와 다르게 표시되어 있음; 리포터 유전자가 발현되는 상태를 적절히 표시한 그림 [5점]

[2-1-2] 리보스위치 센서를 사용하는 경우 [10점]:

(목표 물질이 존재하지 않는 경우)

(목표 물질이 존재하는 경우)

[풀이]

목표 물질이 없는 경우: 리보스위치; 리포터 유전자 등을 적절히 표시한 그림 [5점]

목표 물질이 있는 경우: 리보스위치에 목표 물질이 결합; 리보스위치의 구조가 변한 것을 표시함; 리보스위치의 구조 변화로 인해 전사/번역 상태가 변화한 것을 표시; 리포터 유전자가 발현되는 상태를 적절히 표시한 그림 [5점]

[2-2] 전사인자를 이용하여 납(lead, 원소기호 Pb)을 감지하는 바이오센서를 개발하였다. 하지만 바이오센서의 검출 한계(limit of detection, LOD)는 1 mg/L로, 청정지역에서 납의 배출허용기준인 0.1 mg/L를 검출하기에는 성능이 부족했다. 바이오센서의 검출 한계를 개선하고 출력 신호를 증가시키는 전략을 1) 분자 수준 및 2) 유전자 회로 수준에서 각각 제안하시오. [10점]

[풀이]

다음 각 수준에서 적절한 전략을 하나씩 제시하고 설명하면 5점씩 부여

분자 수준 전략: 전사인자/리보스위치의 결합강도 개선(예: 돌연변이 도입); RNA 안정성 강화(예: RNase 저해제 첨가) 등 [5점]

유전자 회로 수준 전략: 리포터 단백질의 발현 증폭(예: strong promoter, ribosome binding site 강화); 피드백 증폭회로 도입; 조절 요소 다중 도입으로 신호 증폭 등 [5점]

[2-3] 무세포 시스템과 살아있는 세포를 바이오센서로 활용할 때 각각의 장단점을 비교하여 설명하시오. [10점]

[풀이]

다음 각 시스템의 장단점을 적절히 하나씩 작성하면 2.5점씩 부여

무세포 시스템 장점: 빠른 신호 도출; 유전자 발현 조절이 비교적 용이하며 외부 환경 영향 최소; 생물안전성 확보가 쉬움 (살아있는 세포 없음) [2.5점]

무세포 시스템 단점: 제한된 작동 시간과 단백질 발현 지속성 문제; 세포 내 복잡한 대사 경로나 환경 조건 재현 불가 [2.5점]

살아있는 세포 장점: 지속적이고 복잡한 대사 네트워크 유지 가능; 세포 내 다양한 기능성 조절 및 피드백 가능 [2.5점]

살아있는 세포 단점: 성장 및 유지 조건 제한적, 환경 변화 민감; 생체내 독성 및 안정성 문제 발생 가능 [2.5점]

[3] 대사질환 환자 치료용 생균치료제(engineered live biotherapeutic product, eLBP)를 개발 중인 연구팀은 효과적인 치료를 위해 인간 유래 단백질을 생산하는 대장균 균주를 개발하고 있다. 치료 효과가 우수한 균주를 개발하기 위해 치료 단백질이 균주 내에서 활성을 갖고 안정적으로 발현되어야 한다. 인간 유래 단백질을 대장균에서 성공적으로 발현시키기 위해 고려해야 할 사항들이 있다. 다음 질문에 답하시오. [총 30점]

[3-1] 진핵 생물과 원핵 생물에서 단백질을 암호화하고 있는 유전자 구조의 차이점을 설명하고, 원하는 아미노산 서열을 가진 진핵 생물 단백질을 원핵 세포에서 발현시키려면 유전자를 어떻게 조정해야 하는지 설명하시오. [10점]

[풀이]

유전자 구조 차이점 설명 [5점]; 유전자 조정 전략 설명 [5점]

진핵 생물 유전자는 단백질을 암호화하지 않는 인트론(intron)과 단백질을 암호화하는 엑손(exon)으로 구성되어 있다. 이에 비해 원핵 생물 유전자는 단백질을 암호화하는 구역으로만 이루어져 있다. 진핵 생물에서는 RNA가 전사된 후에 인트론은 스플라이싱(splicing) 과정을 거쳐 제거되고, 엑손은 스플라이싱 과정에서 다양한 방식으로 조합될 수 있다. 따라서, 원하는 아미노산 서열을 가진 진핵 생물 단백질을 원핵 세포에서 발현시키려면 스플라이싱이 모두 완료된 형태의 RNA 서열을 활용해야 한다.

[3-2] 인간 유래 유전자의 구조를 대장균에서 발현시킬 수 있는 형태로 조정하여 정확한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드가 합성되었으나, 생산된 치료용 단백질의 활성이 높지 않았다. 이런 현상이 발생한 이유들을 설명하시오. [10점]

[풀이]

다음 중 적절한 설명을 제시하면 각 이유당 5점씩 부여

치료용 단백질이 활성이 낮은 이유 중 하나는 단백질 접힘(folding) 문제로, 진핵 세포에서 활용되던 샤페론이 원핵 세포에는 부재하여 단백질이 활성형으로 잘 접히지 않을 수 있다.

혹은 코돈 최적화 부족 및 단백질 번역 속도의 차이로 인해 동일한 서열의 폴리펩타이드가 합성되더라도 진핵 세포와 원핵 세포 사이에 단백질의 구조가 달라질 수 있다.

또한, 원핵 세포에는 glycosylation 등 번역 후 변형(post-translational modification, PTM)이 부족하여 효소 활성 또는 안정성이 떨어질 수 있다.

[3-3] 치료용 단백질 유전자를 플라스미드에 클로닝하여 생균치료제에 형질전환 하였으나, 개발된 생균치료제의 치료 효과가 시간이 지남에 따라 급격히 감소하였다. 그 이유를 설명하고, 이를 해결할 수 있는 전략을 제시하시오. [10점]

[풀이]

이유: 플라스미드는 선택압(selection pressure)이 주어지지 않으면 세포 내에서 안정적으로 유지되기 어렵다. 따라서, 생균 치료제가 성장하는 과정에서 플라스미드가 소실되고, 이에 따라 클로닝되었던 치료용 단백질 유전자도 함께 사라져 치료 효과가 저해된다. [5점]

해결 전략: 이를 해결하기 위해 치료용 단백질 유전자를 숙주 chromosome에 안정적으로 삽입하거나 균주의 생존과 연계된 selection marker를 도입하여 발현 균주의 안정성을 확보할 수 있다. [5점]

제25회 한국화학공학회 생명공학 경시대회(LG화학 후원)

(효소공학 부문)

학교 명 : _____ 이름 : _____

(공간이 부족하면 시험지 뒷면을 이용하세요.)

[1] 산업적인 측면에서 효소 사용의 장단점에 대하여 설명하시오. [20점]

[풀이]

(1) 장점

높은 특이성: 원하는 반응만 선택적으로 진행,
온화한 조건: 낮은 온도·중성 pH에서도 작동 → 에너지 절약,
친환경적: 부산물 적고 생분해 가능,
재사용 가능: 고정화하면 반복 사용 가능,
고효율: 소량으로도 빠른 반응속도

(2) 단점

불안정성: 고온·극한 조건에 약함,
높은 비용: 생산 및 정제 비용 큼,
작동 조건 제한: 최적 pH·온도 범위 좁음,
저해 민감성: 금속 이온 등 외부 영향에 민감,
보관 어려움: 냉장 등 조건 필요, 활성이 감소 가능

[2] 산업 공정에서는 고온(50°C 이상) 조건에서의 반응 속도 증가, 기질 용해도 개선, 오염 방지 등을 위해 **효소의 고온 안정성(열안정성, thermostability)**이 매우 중요하다. 하지만 대부분의 효소는 고온에서 변성되기 쉬우므로, 이를 극복하기 위한 다양한 효소공학적 전략이 개발되어 왔다. 대표적인 효소 개량 방법 2가지를 쓰고 기본 원리 및 장단점에 대하여 설명하시오. [30점]

[풀이]

(1) 합리적 설계 (Rational Design) [15점]

단백질의 3차원 구조나 분자역학 시뮬레이션에 기반하여, 특정 아미노산을 타겟으로 돌연변이를 유도하여 열안정성을 향상시키는 전략이다. 효소 활성증대, 효소 기질 특이성 증가에 많이 사용된다. 즉 구조가 존재할 때 정밀하게 변형이 가능함.

(2) 유도진화 (Directed Evolution) (15점)

자연계의 진화 원리를 실험실에서 모사하여, 무작위 돌연변이와 선택을 반복하여 목적에 맞는 효소를 얻는 방식. 많은 양의 library를 처리 해야하므로, 이에 따른 High throughput screening 시스템이 꼭 수반되어야 합니다. 효소 활성증대, 효소 안정성 증가에 많이 사용된다. 구조 정보가 부족하거나 넓은 특성 개선이 필요할 경우에는 유도진화가 적합하다.

[3] 어떤 신규 효소를 발굴하여 재조합 단백질로 발현한 후, 효소 특성 분석을 수행하였다. 다음 물음에 답하시오. [총 20점]

[3-1] 효소의 K_m 과 V_{max} 를 구하기 위한 실험에서 측정해야 하는 변수들을 나열하고, 효소 반응에 영향을 주는 조건을 3가지 이상 기술하시오. [5점]

[풀이]

pH, 온도, 메탈이온, 염농도, 효소농도, 반응시간

[3-2] 효소에 저해제를 첨가한 결과, K_m 값은 변하지 않았으나 V_{max} 값이 감소하였다. 이 저해 반응의 종류와, 저해제가 결합하는 부위에 대해 설명하시오. [10점]

[풀이]

비가역적 저해 혹은 비경쟁적저해 (noncompetitive inhibition), 결합 부위: 효소의 allosteric site (비활성화 조절 부위)

[3-3] K_m 값을 낮추기 위해 돌연변이 효소를 설계하고자 한다. 어떤 아미노산 부위를 타겟으로 할 수 있나요? [5점]

[풀이]

Substrate binding site 주위의 잔기

[4] 산업 공정에서 효소는 반복 사용성과 안정성을 확보하기 위해 고정화(immobilization)되어 사용되는 경우가 많다. 다음 물음에 답하시오. [총 30점]

[4-1] 효소 고정화의 기본 개념과 원리를 설명하시오. [10점].

[풀이]

효소 고정화는 효소를 고체 지지체(support matrix)에 물리적 또는 화학적으로 결합시켜, 반응 후에도 효소가 손실되지 않고 재사용 가능하도록 만드는 기술이다. 고정화를 통해 효소는 열, pH, 유기용매 등 외부 스트레스에 대한 내성이 증가하며, 공정의 반복성 및 안정성이 크게 향상된다.

[4-2] 효소 고정화의 대표적 방법 3가지와 장단점을 기술하시오. [20점]

[풀이] - 다른 효소 고정화 방법에 대한 장단점을 적절히 기술해도 정답 인정

① 흡착 (Adsorption)

- 장점: 단순하고 비용이 저렴하며, 효소 구조 변형이 거의 없음.
- 단점: 약한 상호작용에 의존하므로 탈착 가능성이 큼.

② 공유결합 (Covalent Bonding)

- 장점: 강한 결합으로 탈리 위험이 거의 없음.
- 단점: 효소 활성 부위 근처의 결합 시 활성 손실 가능성 존재.

③ 포획 (Entrapment)

- 장점: 효소가 유출되지 않아 안정적, 외부 환경으로부터 보호됨.
- 단점: 기질 및 생성물 확산 저해 발생 가능성

제25회 한국화학공학회 생명공학 경시대회(LG화학 후원)

(배양 및 생물반응공학 부문)

학교 명 : _____ 이름 : _____

(공간이 부족하면 시험지 뒷면을 이용하세요.)

[1] 어떤 미생물의 회분식 배양을 통해 생성물 A와 B에 대하여 다음과 같은 데이터를 얻었다.

배양 초기($t=0$)의 세포 농도(X_0)는 1.2 g/L이며, 기질 농도(S_0)는 100 g/L이다. 다음 물음에 답하시오. [총 50점]

시간 [h]	제한 기질(S) [g/L]	세포 농도(X) [g/L]	$\ln X$	생성물 A [g/L]	생성물 B [g/L]
1	100	1.3	0.26	0	0
2	100	1.3	0.26	0	0
3	100	1.3	0.26	0	0
4	95	1.5	0.41	1	0
5	80	2.1	0.74	4	0
6	70	3.1	1.14	8	0
7	60	4.7	1.54	12	0
8	50			16	0
9	40	10.4	2.34	20	0
10	30			24	0
11	20	23.1	3.14	28	0
12	10	34.5	3.54	32	0
13	5	39.6	3.68	34	1
14	2	45.2	3.81	35	3
15	0	45.2	3.81	35	5
16	0	42.9	3.76	35	7
17	0	40.0	3.69	35	8
18	0	36.6	3.60	35	9
19	0	32.8	3.49	35	9

[1-1] 아래 보기를 참고하여 배양시간 A) 5~12 와 B) 16~19에 해당하는 회분식 생장의 주기를 표기하시오. [10점]

[보기]

가) 지연기 (또는 유도기: Lag phase)

나) 대수기 (또는 지수생장기: exponential growth phase)

다) 정지기 (stationary phase)

라) 사멸기 (death phase)

A) 5 ~ 12시간 정답: (**나**)

B) 16 ~ 19시간 정답: (**라**)

[1-2] 배양을 통해 생성된 A와 같은 물질은 [가] (이)라고도 하며, 생성물 B는 [나] (이)라고도 한다. [10점]

정답 가: (**1차 대사물 또는 생장 관련 산물**), 정답 나: (**2차 대사물 또는 비생장 관련 산물**)

[1-3] 대수기에서 세포 성장 속도식을 유도하고, 세포 성장 속도상수(μ)를 구하시오. [10점]

유도식 $\frac{dX}{dt} = \mu X \rightarrow \frac{1}{X} dX = \mu dt \rightarrow \ln X_t - \ln X_0 = \mu t \quad \therefore \mu = \frac{\ln X_t - \ln X_0}{t}$

세포 성장 속도상수(μ) = 대수기 구간 평균 기울기 $\rightarrow \therefore \mu = \frac{3.54 - 0.74}{12 - 5} = \frac{2.8}{7} = 0.4$

대수기 초기(t_0) = 5 h, $X_0 = 2.1$, $\ln X_0 = 0.74$

대수기 말기(t) = 12 h, $X_t = 34.5$, $\ln X_t = 3.54$

[1-4] 배양 8, 10시간에서 각각의 세포 농도를 예측하시오. [10점]

정답: 배양 8시간 (7.0) g/L, 배양 10시간 (15.5) g/L

대수기 초기(t_0) 세포 농도 $X_0 = 2.1$, 대수기 시간(t)에서의 세포 농도 $\rightarrow X_t = X_0 e^{\mu t}$

배양 8시간: 대수기 $t \rightarrow 3$, $X_{t \rightarrow 3} = 2.1 \times e^{0.4 \times 3} \approx 6.97 \therefore 7.0$

배양 10시간: 대수기 $t \rightarrow 5$, $X_{t \rightarrow 5} = 2.1 \times e^{0.4 \times 5} \approx 15.52 \therefore 15.5$

[1-5] 이 배양에서 세포 생산 수율이 가장 높은 시간은 언제인가? 그리고 최대 수율(%)을 구하시오. [10점]

정답: 배양시간 (14) h, 최대 수율(%): (44.9)%

수율 계산 $\rightarrow Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \times 100(\%)$, $t \rightarrow 14 = \frac{45.2 - 1.2}{100 - 2} = 44.9$

- [2] 100 L급 생물반응기에서 어떤 미생물을 배양하고 있다. 이 시스템의 시간당 부피물질전달계수(K_La)를 결정하기 위해 동역학적 방법으로 다음과 같이 실험을 수행하였다. 정상상태로 운전하고 있던 생물반응기 내 공기주입을 짧은 시간 동안 중단한 후 다시 개시하였으며, 반응기 내 산소농도(DO)를 1분 단위로 기록하여 아래 표에 나타내었다. 이 시스템에서 포화 용존산소 농도(C^*)는 15 mg/L, 건조세포중량(dry cell weight)은 4 g cell/L로 측정되었다. 다음 물음에 답하시오. [총 50점]

	Time (min)	DO (mg/L)
정상상태	-	10
공기중단	0	10
	1	8
	2	6
	3	4
	4	2
공기주입	5	0
	6	1
	7	2
	8	3
	9	4
	10	5
	11	6
	12	7
	13	8
	14	8.5
	15	9
	16	9.5
	17	10
	18	10

시간에 따른 용존산소의 변화량은 아래와 같다.

$$\frac{dC_L}{dt} = OTR - OUR, \quad OTR = k_La(C^* - C_L) \text{ 이므로 } \quad \therefore \frac{dC_L}{dt} = k_La(C^* - C_L) - OUR$$

- [2-1] 세포의 산소섭취속도(OUR)를 계산하시오. (단위를 반드시 표기할 것) [10점]

산소 공급이 중단될 때 산소전달속도(OTR)=0 이므로, $\frac{dC_L}{dt} = -OUR$

$$OUR = -\frac{(2-8)DO \text{ mg/L}}{(4-1)\text{min}} = \frac{6DO \text{ mg/L}}{3\text{min}} \quad \therefore OUR = 2 DO \text{ mg/L} \cdot \text{min}$$

- [2-2] 동역학적 방법으로 K_La 를 구하시오. (10분을 기준으로 상승곡선 기울기를 활용할 것, 단위 반드시 표기) [20점]

$C^* = 15 DO \text{ mg/L}$ 이고, 10분 기준 $C_L = 5 DO \text{ mg/L}$, 10분 기준 상승곡선 기울기 $\Rightarrow \frac{dC_L}{dt} = 1 DO \text{ mg/L} \cdot \text{min}$

$$\frac{dC_L}{dt} = k_La(C^* - C_L) - OUR \Leftrightarrow k_La = \frac{\frac{dC_L}{dt} + OUR}{(C^* - C_L)} = \frac{(1+2)DO \text{ mg/L} \cdot \text{min}}{(15-5)DO \text{ mg/L}} = \frac{3/\text{min}}{10} = 0.3 \text{ min}^{-1}$$

$$\therefore k_La = 0.3 \text{ min}^{-1}$$

- [2-3] 이 배양시스템의 비호흡속도(q_{O_2})를 측정하시오. (단위를 반드시 표기할 것) [20점]

건조세포중량(dry cell weight), $X = 4 \text{ g cell/L}$

$$OUR = q_{O_2}X, \quad q_{O_2} = \frac{OUR}{X} = \frac{2DO \text{ mg/L} \cdot \text{min}}{4 \text{ g cell/L}}$$

$$\therefore q_{O_2} = 0.5 DO \text{ mg/g cell} \cdot \text{min}$$

제25회 한국화학공학회 생명공학 경시대회(LG화학 후원)

(생물분리정제 부문)

학교명 : _____ 이름 : _____

(공간이 부족하면 시험지 뒷면을 이용하세요.)

[1] pH 7.5 완충용액에서 단백질 A(pI 8.5), B(pI 6.0), C(pI 9.5)를 정제하려 한다. 컬럼은 내경 1.6 cm, 베드높이 10 cm로 베드부피는 약 20.1 mL이며, 수지의 DBC10% (2 mg/mL feed 기준)은 25 mg/mL (resin)이고 목표 접촉시간은 4분이다.

[1-1] 이 조건에서 선택해야 할 이온교환 수지의 종류와 선택 이유를 논리적으로 서술하고, B의 공정 내 거동과 A/C의 예상 용출 순서를 근거와 함께 설명하시오. [20점]

[정답] 양이온 교환수지, B, A, C 순으로 용출

[풀이]

pH 7.5에서는 pI가 더 큰 단백질이 순양전하를 띠므로 A(pI 8.5)와 C(pI 9.5)는 양전하, B(pI 6.0)는 음전하를 띤다. 따라서 양전하를 선택적으로 결합시키기 위해 양이온 교환체(CM류)를 선택하는 것이 타당하다. B는 음전하이므로 수지에 결합하지 않고 흐름통과(Flow-through)로 제거된다. 양이온 교환 컬럼에서 상대적으로 전하가 약한(결합력이 약한) 종이 먼저 용출되므로 A가 먼저, C가 나중에 용출될 것으로 예측된다.

[1-2] 컬럼 베드부피를 근거로 10% 돌파 전 한 사이클에서 결합 가능한 A의 최대 질량과 접촉시간 4분을 만족하는 분당 유량(mL/min)을 계산하시오. [10점]

[정답] 최대 결합 질량=~503 mg, 유량=~5.03 mL/min

[풀이]

$$BV = \pi(0.8^2) \times 10 = 20.1 \text{ mL. 결합량} = 25 \text{ mg/mL} \times 20.1 \text{ mL} = \approx 503 \text{ mg.}$$

$$\text{유량} = BV/RT = 20.1 \text{ mL} / 4 \text{ min} = \approx 5.03 \text{ mL/min.}$$

[2] 초기 부피 10 L, 단백질 농도 1 mg/mL 용액을 30 kDa UF 막 (막면적 0.20 m², 플럭스 30 LMH로 일정)으로 농축한다. 단백질 체가율은 0.98 (Sieving S=0.02)이며 목표 최종 농도는 5 mg/mL이다.

[2-1] 목표 농도 도달을 위한 최종 부피와 제거할 투과액 부피를 유도하고, 플럭스와 막면적을 이용해 농축 소요 시간을 계산하시오. [20점]

[정답] 제거할 투과액 부피=8L, 농축 소요 시간=1.33h (~80 min)

[풀이]

$$\text{총 질량 } M_0 = 10 \text{ L} \times 1 \text{ mg/mL} = 10 \text{ g}$$

$$V_f = M_0 / 5 \text{ mg/mL} = 10 \text{ g} / (5 \text{ mg/mL}) = 2.0 \text{ L}$$

$$\text{제거 투과액} = 10 - 2 = 8 \text{ L, 시간} = 8 \text{ L} / (6 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}) = 1.33 \text{ h} (\sim 80 \text{ min})$$

[2-2] 손실 모델 $M_f = M_0 \times (V_f/V_0)^S$ 를 사용하여 농축 단계에서의 단백질 손실률(%)을 계산하시오. [10점]

[정답] 3.2%

[풀이]

$$M_f = 10 \times (2/10)^{0.02} = 10 \times 0.968 = \sim 9.68 \text{ g}$$

$$\text{손실률} = 1 - (M_f/M_0) = 1 - 0.968 = 3.2$$

[3] 단백질 A의 리간드 결합은 Langmuir 등온식 $q = \frac{q_{\max}KC}{1+KC}$ 를 따른다. $q_{\max} = 50 \text{ mg/mL (resin)}$, $K = 0.5 \text{ mL/mg}$, 공급 농도 $C = 2 \text{ mg/mL}$ 이다. 컬럼은 내경 1.0 cm, 베드높이 10 cm이며, 공급액은 2 mg/mL로 총 1.0 L(=2000 mg)이다. 운전 조건에서 DBC10%를 평형 q 의 70%로 근사한다고 가정한다.

[3-1] 주어진 매개변수를 사용하여 평형 결합용량 q 와 DBC10% (mg/mL resin)을 계산하시오. [10점]

[정답] $q = 25 \text{ mg/mL}$, DBC10% = 17.5 mg/mL

[풀이]

$$KC = 0.5 \times 2 = 1, q = 50 \times (1/2) = 25 \text{ mg/mL}, \text{ DBC10\%} = \sim 0.7q = 17.5 \text{ mg/mL}$$

[3-2] 컬럼 배드부피와 한 사이클 최대 결합 질량, 전량 처리를 위한 최소 사이클 수를 구하시오. [10점]

[정답] 배드부피 = 7.85 mL, 최대 결합 질량 = ~137 mg, 필요한 사이클 수 = 15 사이클

[풀이]

$$BV = \pi(0.5^2) \times 10 = 7.85 \text{ mL}$$

$$\text{사이클당 결합량} = 17.5 \text{ mg/mL} \times 7.85 \text{ mL} = \sim 137 \text{ mg}$$

$$\text{필요한 사이클 수} = 2000 \text{ mg} / 137 \text{ mg} = \sim 15 \text{ cycles}$$

[4] 두 단백질에 대해 선택성 $\alpha = 1.20$, 평균 보정 용출계수 $k' = 1.5$ 가 주어졌고, 분리도 근사식

$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k'}{1 + k'}$ 를 사용한다. 현재 사용 중인 컬럼의 이론단수는 $N = 4000$ 이다.

[4-1] 주어진 식과 매개변수를 이용해 현재 분리도 R_s 를 계산하시오. [10점]

[정답] $R_s = 1.58$

[풀이]

$$\text{상수항 } \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k'}{1 + k'} = \frac{0.20}{1.20} \cdot \frac{1.5}{2.5} = 0.1667 \times 0.6 = 0.10$$

$$R_s = \frac{\sqrt{4000}}{4} \times 0.10 = 63.245/4 \times 0.10 = 1.58$$

[4-2] 기본분리($R_s = 1.5$)를 달성하기 위해 필요한 최소 이론단수 N 을 역으로 구하시오. [10점]

[정답] $N = 3600$

[풀이]

$$R_s = 1.5 = \frac{\sqrt{N}}{4} \times 0.10 \Rightarrow \sqrt{N} = 60 \Rightarrow N = 3600$$