

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2023-0077662
(43) 공개일자 2023년06월01일

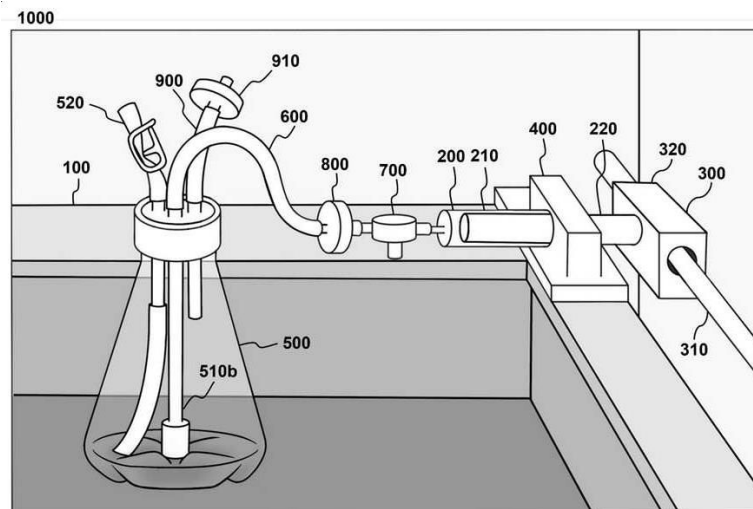
- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/34 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
C12M 1/24 (2006.01) *C12M 1/26* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12M 41/34 (2013.01)
C12M 23/08 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-0153937
 (22) 출원일자 2022년11월16일
 심사청구일자 2022년11월16일
- (30) 우선권주장
 1020210164839 2021년11월25일 대한민국(KR)

- (71) 출원인
 서강대학교산학협력단
 서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
- (72) 발명자
 정민서
 서울 동작구 상도로 364-1 힐스테이트 상도 센트럴파크 104동 305호
- 홍효진
 경기도 파주시 가온로 67 503-303
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 특허법인에스알비

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 플라스크 배양용 가스 기질의 연속적인 공급 장치**(57) 요약**

본 발명은 플라스크 배양용 가스 기질의 연속적인 공급 장치에 관한 것으로, 본 발명에 따른 플라스크 배양시스템은 플라스크 내부로 가스 기질을 안정적으로 공급할 수 있어, 미생물 배양에 있어서 탁월한 배양 효과를 나타낼 수 있고, 이를 통해 본 발명에 따른 플라스크 배양 시스템은 다양한 미생물 배양에 이용될 수 있다.

대표도

(52) CPC특허분류

C12M 23/50 (2013.01)
C12M 29/04 (2013.01)
C12M 29/06 (2013.01)
C12M 29/20 (2013.01)
C12M 33/14 (2013.01)
C12M 41/40 (2013.01)

(72) 발명자

전성훈

경기도 안양시 동안구 부림로 80 608동 1503호

오병근

서울특별시 마포구 모래내로9길 3, 106동 1506호

이진원

서울특별시 송파구 양재대로 1218 (방이동, 올림픽선수기자촌아파트) 201동 1601호

나정결

서울 서초구 고무래로 89 반포써밋 107동 302호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711131177
과제번호	2015M3D3A1A01064926
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	C1 가스 리파이너리 사업
연구과제명	가스 전달 한계를 극복하는 고효율 C1 가스 전환 시스템 개발
기 여 율	75/100
과제수행기관명	서강대학교 산학협력단
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2021400000
과제번호	20214000000500
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국에너지기술평가원
연구사업명	에너지인력양성사업(RCMS)
연구과제명	녹색성장을 위한 CCUS 전문인력 양성
기 여 율	25/100
과제수행기관명	서강대학교 산학협력단
연구기간	2021.04.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

일측에 배치되는 회전부;

피스톤 및 실린더를 포함하는 시린지;

인접한 고정 구조부에 부착되는 지지체, 및 상기 피스톤과 연결되며 상기 지지체가 관통하는 중공을 포함하는 변환기를 포함하는 변환부;

상기 시린지를 상기 회전부에 고정하는 고정부;

상기 회전부의 상측에 배치되고 미생물이 배양되는 플라스크; 및

상기 플라스크 및 상기 시린지 사이에 배치되는 연결관;

을 포함하고,

상기 변환부는 상기 고정 구조부에 부착된 지지체를 통해 상기 회전부의 회전운동을 병진운동으로 변환하는 것인,

플라스크 배양시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 연결관과 상기 시린지 사이에 배치되고, 상기 시린지로부터 상기 플라스크로 향하는 공기의 흐름을 제어하는 밸브를 더 포함하는 것인, 플라스크 배양시스템.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 연결관과 상기 시린지 사이에 배치되고, 상기 플라스크로 유입되는 공기를 여과하는 여과부를 더 포함하는 것인, 플라스크 배양 시스템.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 플라스크는,

상기 연결관과 연결되면서 상기 플라스크 내부에 배치되고, 상기 특정 기체를 상기 플라스크 내부로 도입하는 튜브를 포함하는 것인, 플라스크 배양시스템.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 튜브는 니들(needle) 형태 또는 스파저(sparger) 형태인 것인, 플라스크 배양 시스템.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 플라스크와 연결되고 상기 플라스크에서 배양된 시료를 수집하는 수집관을 더 포함하는 것인, 플라스크 배양 시스템.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 플라스크와 연결되고, 상기 플라스크에서 배양에 따라 생성된 기체를 배출하는 배출관을 더 포함하는 것인, 플라스크 배양 시스템.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 배출관과 연결되어 상기 플라스크와 플라스크 외부 사이의 압력을 조절하는 시린지 필터를 더 포함하는 것인, 플라스크 배양 시스템.

청구항 9

플라스크 배양시스템의 플라스크에 미생물을 포함하는 시료를 넣고 배양하는 배양 단계;를 포함하고,

상기 플라스크 배양시스템은 하기의 구성을 포함하는 것인, 미생물 배양 방법:

일측에 배치되는 회전부;

피스톤 및 실린더를 포함하는 시린지;

인접한 고정 구조부에 부착되는 지지체, 및 피스톤과 연결되며 지지체가 관통하는 중공을 포함하는 변환기를 포함하는 변환부;

시린지를 회전부에 고정하는 고정부;

회전부의 상측에 배치되고 미생물이 배양되는 플라스크; 및

플라스크 및 상기 시린지 사이에 배치되는 연결관;을 포함하고,

상기 변환부는 고정 구조부에 부착된 지지체를 통해 회전부의 회전운동을 병진운동으로 변환하는 것임.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미생물 세포의 플라스크 이용 소규모 배양에서 가스 기질을 효율적으로 연속 공급할 수 있는 가스 공급 장치에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 플라스크 하부의 회전판의 회전운동을 병진운동으로 변환함에 따라 플라스크에 특정 가스를 연속적으로 공급할 수 있는 플라스크 배양시스템에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 플라스크 배양은 생물공학 연구에서 가장 널리 사용되는 방법 중의 하나이다. 특히 본격적인 반응기 수준의 연구에 앞서, 우수 균주의 분리, 배지 설계, 배양 조건 최적화 등의 많은 변수에 대한 탐색을 필요로 하는 소규모 실험에서는 대부분 플라스크가 활용되고 있다.

[0003] 특히 최근 들어 메탄이나 일산화탄소, 이산화탄소를 기질로 활용하여 연료나 화학제품 등의 유용물질을 생산하는 가스 발효 분야가 주목을 받으면서 이들을 대사하는 새로운 미생물의 탐색과 배양 조건을 찾기 위한 연구가 활발히 진행 중이다. 메탄이나 일산화탄소 기체는 수용액에 대한 용해도가 매우 낮아 가스의 효율적인 전달이 어렵기 때문에 배양의 성능은 물질전달 특성에 좌우된다. 따라서, 가스 발효용 균주의 탐색, 생리학적 특성 연구, 배양 조건 최적화를 위하여 소규모 실험에서도 안정적인 가스 전달이 가능한 방법의 개발이 필수적이라 할 수 있다.

[0004] 통상적인 플라스크 배양시스템은 외부 공기의 공급과 미생물 세포 배양 과정에서 발생한 공기의 유출이 효과적으로 이루어지도록 외부 오염원의 침투는 방지한 채로 공기의 출입이 가능한 실리콘 마개 등을 장착한 플라스크를 일정한 속도의 회전판에서 교반하여 액체 배지나 기체가 혼합되도록 구성되어 있다. 이때 플라스크의 실리콘 마개는 공기의 출입이 가능하긴 하나, 물질 전달 저항이 발생하므로 미생물 생육이나 산물 생산에 필요한 산소가 충분히 공급되기 어려울 뿐만 아니라, 배양 과정에서 발생한 가스의 배출 역시 원활하지 못하다는 문제가 있다.

[0005] 이러한 문제점을 해결하기 위하여 플라스크 배양액에 외부의 공기를 펌프를 통하여 공급하는 방법을 생각할 수 있으나, 이 경우에는 기체 공급 펌프를 별도로 사용해야 하는 문제점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명자들은 별도의 가스 펌프 없이 안정적인 가스 전달이 가능한 가스 공급 장치를 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 플라스크의 교반에 사용되는 회전 에너지를 활용하여 외부 공기를 흡입, 토출함으로써 플라스크 내부로 가스 기질을 안정적으로 공급할 수 있다는 것을 확인하였으며 기존의 플라스크 배양 대비 탁월한 세포 성장 효과가 나타난다는 것을 규명함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0007] 따라서, 본 발명의 목적은 미생물세포의 플라스크 배양에 사용되는 플라스크 배양시스템을 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 플라스크 배양시스템을 이용하는 플라스크 배양 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 플라스크 배양용 가스 기질의 연속적인 공급 장치에 관한 것으로, 본 발명에 따른 플라스크 배양시스템은 플라스크 내부로 가스 기질을 안정적으로 공급할 수 있다.
- [0010] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [0012] 본 발명의 일 양태는, 일측에 배치되는 회전부; 피스톤 및 실린더를 포함하는 시린지; 인접한 고정 구조부에 부착되는 지지체, 및 피스톤과 연결되며 지지체가 관통하는 중공을 포함하는 변환기를 포함하는 변환부; 시린지를 상기 회전부에 고정하는 고정부; 회전부의 상측에 배치되고 미생물이 배양되는 플라스크; 및 플라스크 및 시린지 사이에 배치되는 연결관; 을 포함하고, 변환부는 고정 구조부에 부착된 지지체를 통해 회전부의 회전운동을 병진운동으로 변환하는 것인, 플라스크 배양시스템에 관한 것이다.
- [0013] 본 발명의 일 구현예에서, 지지체는 피스톤과 직교하는 방향으로 배치되는 것일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 일 구현예에서, 플라스크 배양시스템은 연결관과 시린지 사이에 배치되고, 시린지로부터 플라스크로 향하는 공기의 흐름을 제어하는 밸브를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0015] 본 발명의 일 구현예에서, 플라스크 배양시스템은 연결관과 시린지 사이에 배치되고, 플라스크로 유입되는 공기를 여과하는 여과부를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 일 구현예에서, 플라스크는, 연결관과 연결되면서 플라스크 내부에 배치되고, 기체를 플라스크 내부로 도입하는 튜브를 포함하는 것일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일 구현예에서, 튜브는, 니들(needle) 형태 또는 스파저(sparger) 형태인 것일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 구현예에서, 플라스크 배양시스템은 플라스크와 연결되고 플라스크에서 배양된 시료를 수집하는 수집관을 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일 구현예에서, 플라스크 배양시스템은 플라스크와 연결되고, 플라스크에서 배양에 따라 생성된 기체를 배출하는 배출관을 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일 구현예에서, 플라스크 배양시스템은 배출관과 연결되어 플라스크와 플라스크 외부 사이의 압력을 조절하는 시린지 필터를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0021] 본 발명의 다른 양태는, 다음 단계를 포함하는 미생물 배양 방법이다.
- [0022] 플라스크 배양시스템의 플라스크에 미생물을 포함하는 시료를 넣고 배양하는 배양 단계,
- [0023] 플라스크 배양시스템은,
- [0024] 일측에 배치되는 회전부; 피스톤 및 실린더를 포함하는 시린지; 인접한 고정 구조부에 부착되는 지지체, 및 피스톤과 연결되며 지지체가 관통하는 중공을 포함하는 변환기를 포함하는 변환부; 시린지를 회전부에 고정하는 고정부; 회전부의 상측에 배치되고 미생물이 배양되는 플라스크; 및 플라스크 및 상기 시린지 사이에 배치되는 연결관; 을 포함할 수 있고, 변환부는 고정 구조부에 부착된 지지체를 통해 회전부의 회전운동을 병진운동으로 변환하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명은 플라스크 배양용 가스 기질의 연속적인 공급 장치에 관한 것으로, 본 발명에 따른 플라스크 배양시스템은 플라스크 내부로 가스 기질을 안정적으로 공급할 수 있어, 미생물 배양에 있어서 탁월한 배양 효과를 나타낼 수 있고, 이를 통해 본 발명에 따른 플라스크 배양 시스템은 다양한 미생물 배양에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 니들 형태의 튜브가 장착된 가스 공급 장치를 포함하는 플라스크 배양시스템을 보여주는 사시도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 스파저 형태의 튜브가 장착된 가스 공급 장치를 포함하는 플라스크 배양시스템을 보여주는 사시도이다.

도 3 내지 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 가스 공급 장치를 포함하는 플라스크 배양시스템 및 기존의 배양시스템을 이용하여 다양한 배양 조건에서 코리네박테리움을 배양한 결과를 비교한 그래프이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 니들 형태의 튜브 또는 스파저 형태의 튜브가 장착된 가스 공급 장치를 포함하는 플라스크 배양 시스템 및 기존의 배양시스템을 이용하여 코리네박테리움을 배양한 결과를 비교한 그래프이다.

도 11 및 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 니들 형태의 튜브가 장착된 가스 공급 장치를 포함하는 플라스크 배양시스템 및 기존의 배양시스템을 이용하여 대장균을 배양한 결과를 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 본 발명의 개념에 따른 실시 예는 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 형태를 가질 수 있으므로 특정 실시예들을 도면에 예시하고 본 명세서 또는 출원에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명의 개념에 따른 실시 예를 특정한 개시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0028] 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "연결되어" 있다거나 "접속되어" 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되어 있거나 또는 접속되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다.

[0029] 반면에, 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "직접 연결되어" 있다거나 "직접 접속되어" 있다고 언급된 때에는, 중간에 다른 구성요소가 존재하지 않는 것으로 이해되어야 할 것이다. 구성요소들 간의 관계를 설명하는 다른 표현들, 즉 "~사이에"와 "바로 ~사이에" 또는 "~에 이웃하는"과 "~에 직접 이웃하는" 등도 마찬가지로 해석되어야 한다.

[0030] 본 명세서에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 설시된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부분품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부분품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0032] 도 1 및 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 플라스크 배양시스템을 보여주는 사시도이다.

[0033] 도 1 및 도 2를 참조하면, 일 실시예에 따른 플라스크 배양시스템(1000)은 회전부(100), 시린지(200), 변환부(300), 고정부(400), 플라스크(500) 및 연결관(600)을 포함할 수 있다.

[0034] 회전부(100)는 플라스크(500), 시린지(200), 변환부(300) 및 고정부(400)의 하측에 배치될 수 있다. 회전부(100)는 플라스크(500)의 하측에서 지면과 평행한 방향으로 회전운동을 할 수 있고, 이에 의해 플라스크(500) 내의 배양물들은 교반될 수 있다.

[0035] 변환부(300)는 회전부(100)의 상측에서 회전부(100)와 접하도록 배치될 수 있다. 변환부(300)는 인접한 고정 구조부에 부착되는 지지체(310)를 포함할 수 있다.

- [0036] 지지체(310)는 피스톤(220)과 직교방향으로 배치될 수 있다.
- [0037] 변환부(300)는 피스톤(220)과 연결되며 지지체(310)가 관통하는 중공을 포함하는 변환기(320)를 포함할 수 있다. 이때, 고정 구조부는 회전부(100) 또는 변환부(300)와 인접한 고정된 구조물 또는 벽 등일 수 있다.
- [0038] 따라서, 회전부(100)가 지면과 평행한 방향으로 회전운동을 하게 되면 변환기(320)는 지지체(310)를 따라 병진운동을 할 수 있다. 또한, 회전부(100)의 회전운동에 따라 시린지(200)는 변환기에 근접하거나 또는 멀어질 수 있고, 동시에, 피스톤(220)은 실린더(210)를 향해 전진하거나 실린더(210)의 반대방향을 향해 후퇴할 수 있다. 따라서, 회전부(100)의 회전운동은 변환부(300)에서 병진운동으로 바뀌면서 피스톤(220)은 지지체(310)와 직교하는 방향으로 이동할 수 있으며 실린더(210) 내부의 기체는 피스톤(220)에 의해 연결관(600)으로 이동될 수 있다.
- [0039] 시린지(200)는 피스톤(220) 및 실린더(210)를 포함할 수 있다. 피스톤(220)은 변환부(300)와 연결될 수 있고, 변환부(300)의 지지체(310)와 직교하는 방향으로 배치될 수 있다. 그리고, 피스톤(220)은 지지체(310)의 병진운동에 따라 그와 직교한 방향으로 이동할 수 있으며, 이를 통해 실린더(220) 내부의 기체를 플라스크(500)를 향해 이동시킬 수 있다.
- [0040] 실린더(210)는 고정부(400)에 의해서 고정될 수 있다. 실린더(210) 내부에는 플라스크 배양에 필요한 외부 기체가 포함될 수 있다. 실린더(200) 내부의 기체는 피스톤(220)의 움직임에 의해서 실린더(210) 외부로 배출될 수 있으며, 이에 따라, 기체는 실린더(210)로부터 연결관(600)을 거쳐 플라스크(500) 내부로 이동할 수 있다.
- [0041] 고정부(400)는 회전부(100)의 상측에서 회전부(100)와 연결되도록 배치될 수 있다. 고정부(400)는 시린지(200)를 회전부(100)에 고정시킬 수 있다. 고정부(400)는 브라켓의 형태일 수 있으며, 이에 따라, 시린지(200)를 회전부(100) 상측에 견고하게 고정할 수 있다.
- [0042] 플라스크(500)는 회전부(100)의 상측에 배치될 수 있다. 플라스크(500) 내부에는 미생물을 포함하는 배지 또는 미생물 배양을 위한 시료가 포함될 수 있다. 이때, 미생물은 육안으로 관찰하기에는 지나치게 작은 살아 있는 생물체로서 박테리아, 진균(fungi), 원생생물(protozoans), 조류(algae) 및 바이러스를 포함할 수 있다.
- [0043] 플라스크(500) 내부에는 연결관(600)과 연결되는 기체를 플라스크(500) 내부로 도입하는 튜브(510a, 510b)가 더 포함될 수 있다. 튜브(510a, 510b)는 연결관(600)에 의해 유도된 외부 기체를 플라스크(500) 내의 배양물에 직접적으로 전달할 수 있고, 이를 통해 플라스크(500) 내부의 배양물은 안정적으로 외부 공기를 전달받을 수 있다.
- [0044] 튜브(510a, 510b)의 형태는 외부 기체를 플라스크(500) 내의 배양물에 직접적으로 전달할 수 있는 임의의 형태를 취할 수 있고, 예를 들어 외부 기체가 튜브 말단에 배치되는 단일 기공을 통해 단일 방향으로 배출될 수 있는 니들 형태(510a), 또는 외부 기체가 튜브 말단에 배치되는 복수의 기공을 통해 복수의 방향으로 배출될 수 있는 스파저 형태(510b)일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 연결관(600)에 의해 유도된 외부 기체가 튜브(510a, 510b)를 통해 플라스크(500) 내의 배양물에 전달되는 과정에서 유출되지 않도록 연결관(600)과 튜브(510a, 510b)는 이음새가 밀봉 처리되거나, 또는 이음새가 존재하지 않는 일체형일 수 있다.
- [0046] 여과부(800)는 연결관(600)과 시린지(200) 사이에 배치될 수 있다. 여과부(800)은 플라스크(500)로 유입되는 공기를 여과할 수 있다. 여과부(800)은 시린지 필터(Syringe filter)일 수 있다.
- [0047] 밸브(700)는 연결관(600)과 시린지(200) 사이에 배치될 수 있다. 밸브(700)는 3개의 유로를 포함할 수 있고, 예를 들어, 밸브(700)는 3 방향 체크 밸브(3 way check valve)일 수 있다. 밸브(700)는 시린지(200)로부터 플라스크(500)로 향하는 공기의 흐름을 제어할 수 있다. 구체적으로, 실린더(210)에서 피스톤(220)이 빠지게 되는 경우 밸브(700)의 하측 방향 유로를 통해 유입된 외부 공기가 실린더(210) 내부로 유입되고 실린더(210)의 피스톤(220)이 전진하면 유입되었던 외부 기체가 연결관(600)을 향해 이동할 수 있다.
- [0048] 수집관(520)은 플라스크(500)와 연결될 수 있고, 사용자는 수집관(520)을 이용하여 플라스크(500)에서 배양된 시료를 수집할 수 있다.
- [0049] 배출관(900)은 플라스크(500)와 연결될 수 있고, 플라스크(500) 내부에서 배양이 진행됨에 따라 생성된 기체는 배출관(900)을 통해 플라스크 외부로 배출될 수 있다. 배출관(900)은 배출관(900)과 연결되어 플라스크(500)와 플라스크 외부 사이의 압력차를 조절하는 시린지 필터(910)를 포함할 수 있다.

[0051] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0053] **실시예 1. 플라스크 배양용 가스 기질의 연속적인 공급 장치 제작**

[0054] 도 1 및 도 2와 같은 플라스크 배양 시스템을 제작하였다. 먼저 플라스크 회전부에 부착된 회전에너지 변환부를 부착하였다. 회전부가 회전하는 동안 외부에 고정된 지지체를 관통하는 변환기의 거리 변화에 따라 회전에너지가 왕복에너지로 변환된다. 변환된 왕복에너지는 피스톤에 공급되어 외부의 공기를 흡입하였다가 토출하는데 사용된다. 외부 공기의 투입 시 오염을 방지하기 위하여 플라스크 상단의 외부 공기 도입 포트에는 필터를 부착시켰다.

[0055] 외부 공기 도입 포트를 통해 공급된 공기는 플라스크 하단부를 통해 배양액에 직접 닿게 되고, 압력에 의하여 가스의 일부는 외부로 빠져나가도록 제작하였다.

[0057] **실시예 2. 코리네박테리움의 플라스크 배양 결과**

[0058] 플라스크 배양시스템의 성능을 평가하기 위하여 호기성 미생물인 코리네박테리움을 사용한 배양 실험을 실시하였다.

[0059] 배양 실험은 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 배양하여 수행하였으며, 가스 공급 장치를 사용한 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 플라스크에 대하여 배양 실험을 수행하고, 그 결과를 비교하였다. 배양 실험은 하기 배양 실험 1 내지 배양 실험 8에 기재된 배양 조건에 따라 수행되었다.

[0061] **2-1. 배양 실험 1**

[0062] 가스 공급 장치(니들 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 100mL의 RG 배지에서 120 rpm, 상온으로 15시간 동안 대한과학의 SHO-2D 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 1 및 도 3에 나타내었다.

표 1

배양 시간(h)	OD(600 nm)	
	본 발명 (니들 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.111	0.115
3	0.496	0.539
6	3.84	3.38
9	12.72	7.45
12	29.4	12.5
15	39.8	15.3

[0065] **2-2. 배양 실험 2**

[0066] 가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 100mL의 CG50 배지에서 230 rpm, 30 °C로 12시간 동안 비전과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 2 및 도 4에 나타내었다.

표 2

OD(600 nm)		
배양 시간(h)	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.215	0.277
3	0.815	1.106
6	4.27	5.03
9	14	12.5
12	45.4	12.8

2-3. 배양 실험 3

가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 300mL의 CG50 배지에서 230 rpm, 30 °C로 12시간 동안 비전과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 3 및 도 5에 나타내었다.

표 3

OD(600 nm)		
배양 시간(h)	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.159	0.16
3	0.535	0.614
6	1.932	1.717
9	9.33	3.35
12	31.8	3.84

2-4. 배양 실험 4

가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 100mL의 CG50 배지에서 120 rpm, 30 °C로 12시간 동안 비전과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 4 및 도 6에 나타내었다.

표 4

OD(600 nm)		
배양 시간(h)	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.227	0.275
3	0.912	1.079
6	4.85	5.34
9	15	7.5
12	36.1	11.5

2-5. 배양 실험 5

[0078] 가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 100mL의 CG50 배지에서 300 rpm, 30 °C로 12시간 동안 비전과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 5 및 도 7에 나타내었다.

표 5

[0079]

배양 시간(h)	OD(600 nm)	
	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.273	0.249
3	1.089	1.342
6	4.68	7.84
9	16.6	11.2
12	41.2	10.73

[0081] 2-6. 배양 실험 6

[0082] 가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 300mL의 CG50 배지에서 120 rpm, 30 °C로 12시간 동안 비전과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 6 및 도 8에 나타내었다.

표 6

[0083]

배양 시간(h)	OD(600 nm)	
	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.188	0.191
3	0.747	0.806
6	4.71	2.55
9	14.16	3.41
12	23.5	3.75

[0085] 2-7. 배양 실험 7

[0086] 가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 300mL의 CG50 배지에서 300 rpm, 30 °C로 12시간 동안 비전과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 7 및 도 9에 나타내었다.

표 7

[0087]

배양 시간(h)	OD(600 nm)	
	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.361	0.586
3	0.873	1.161
6	4.28	2.33
9	17.3	2.4

12	46.1	3.3
----	------	-----

2-8. 배양 실험 8

가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 또는 니들 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 코리네박테리움 글루타미쿰 균주를 300mL의 CG50 배지에서 230 rpm, 30 ℃로 12시간 동안 비전 과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 8 및 도 10에 나타내었다.

표 8

배양 시간(h)	OD(600 nm)		
	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	본 발명 (니들 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.159	0.296	0.252
3	0.535	0.889	0.83
6	1.932	3.75	2.69
9	9.33	10.3	3.7
12	31.8	19.6	3.6

15시간 배양 결과 기존의 실리콘 마개를 사용한 플라스크는 최종 OD가 15.3을 나타낸 반면, 본 발명의 가스 공급 장치를 사용할 경우 최종 OD가 39.8을 나타내어 효율적인 가스 공급에 의하여 배양 성능이 크게 향상되었음을 알 수 있다.

또한, 12시간 배양의 결과 본 발명의 가스 공급 장치를 사용한 플라스크의 최종 OD는 장착된 튜브의 형태에 관계없이 기존 실리콘 마개를 사용한 플라스크의 최종 OD보다 최소 3.14배에서 최대 13.97배 높은 것으로 나타나, 본 발명의 효율적인 가스 공급에 의하여 배양 성능이 크게 향상되었음을 알 수 있다.

아울러, 스파저 형태의 튜브가 장착된 가스 공급장치를 사용한 플라스크의 최종 OD는 니들 형태의 튜브가 장착된 가스 공급장치를 사용한 플라스크의 최종 OD보다 약 62.2% 높은 것으로 나타나, 장착된 튜브의 형태 및 그에 따른 가스 공급 방식에 따라 미생물 배양 성능이 조절될 수 있음을 확인하였다.

실시예 3. 대장균의 플라스크 배양 결과

다양한 미생물에 대한 플라스크 배양 시스템의 성능을 평가하기 위하여 대표적인 산업용 균주인 대장균을 사용한 배양 실험을 실시하였다.

배양 실험은 대장균을 LB 배지에서 배양하여 수행하였으며, 니들 형태의 튜브가 장착된 가스 공급 장치를 사용한 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 플라스크에 대하여 배양 실험을 수행하고, 그 결과를 비교하였다. 배양 실험은 하기 배양 실험 9 및 배양 실험 8에 기재된 배양 조건에 따라 수행되었다.

3-1. 배양 실험 9

가스 공급 장치(니들 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 대장균을 100mL의 LB 배지에서 100 rpm, 상온으로 12시간 동안 대한과학의 SH0-2D 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 9 및 도 11에 나타내었다.

표 9

OD(600 nm)		
배양 시간(h)	본 발명 (니들 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.048	0.047
3	0.07	0.071
6	0.228	0.213
9	1.029	0.921
12	2.91	2.332

3-2. 배양 실험 10

가스 공급 장치(스파저 형태 튜브 장착)를 사용한 500 mL 플라스크와 기존의 실리콘 마개를 사용한 500 mL 플라스크에서 각각 대장균을 300mL의 LB 배지에서 150 rpm, 37 °C로 12시간 동안 비전 과학의 VS-8480SF 진탕배양기를 이용하여 회분식 배양을 실시하였다. 배양되는 세포의 농도는 UV-vis photospectrometer를 이용하여 600 nm에서의 흡광도로 3시간마다 측정하였고, 그 결과를 표 10 및 도 12에 나타내었다.

표 10

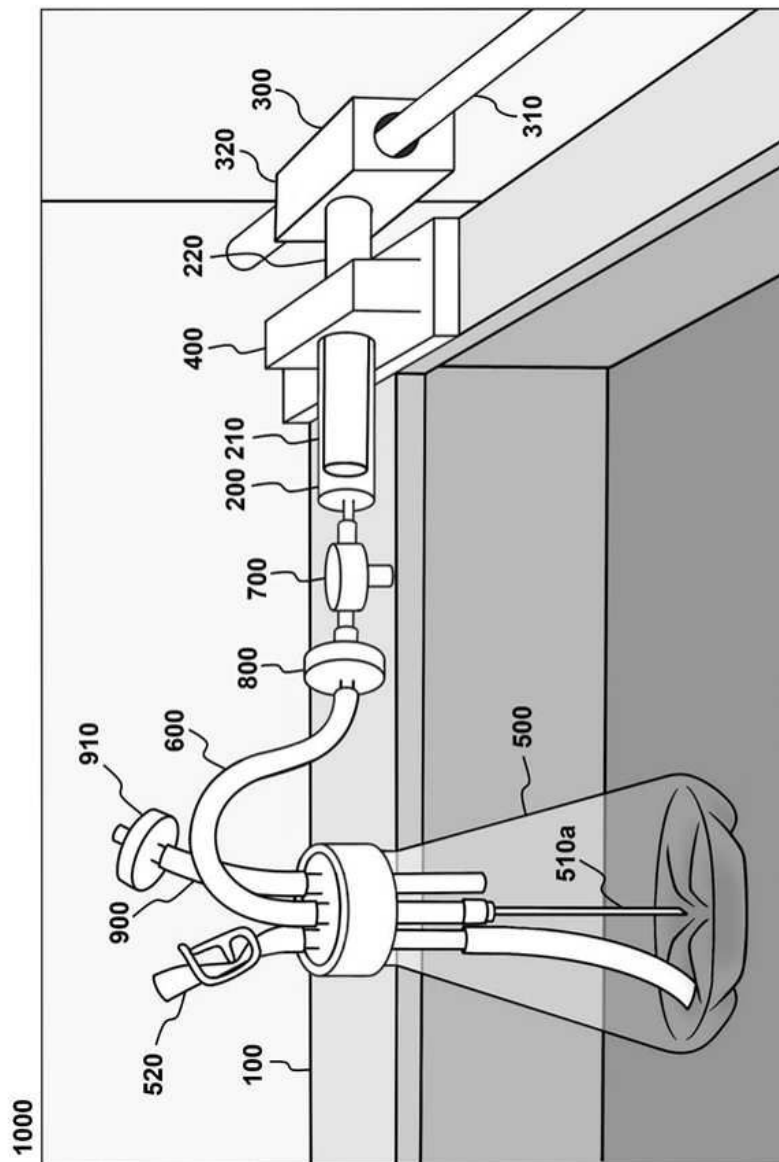
OD(600 nm)		
배양 시간(h)	본 발명 (스파저 형태 튜브 장착)	기존 시스템 (실리콘 마개)
0	0.037	0.036
3	0.73	0.68
6	4.26	3.34
9	6.01	5.28
12	6.33	5.61

배양 결과, 기존의 실리콘 마개를 사용한 플라스크는 최종 OD가 2.33 또는 5.61을 나타낸 반면 본 발명의 가스 공급 장치를 사용할 경우 최종 OD가 2.91 또는 6.33을 나타내었다.

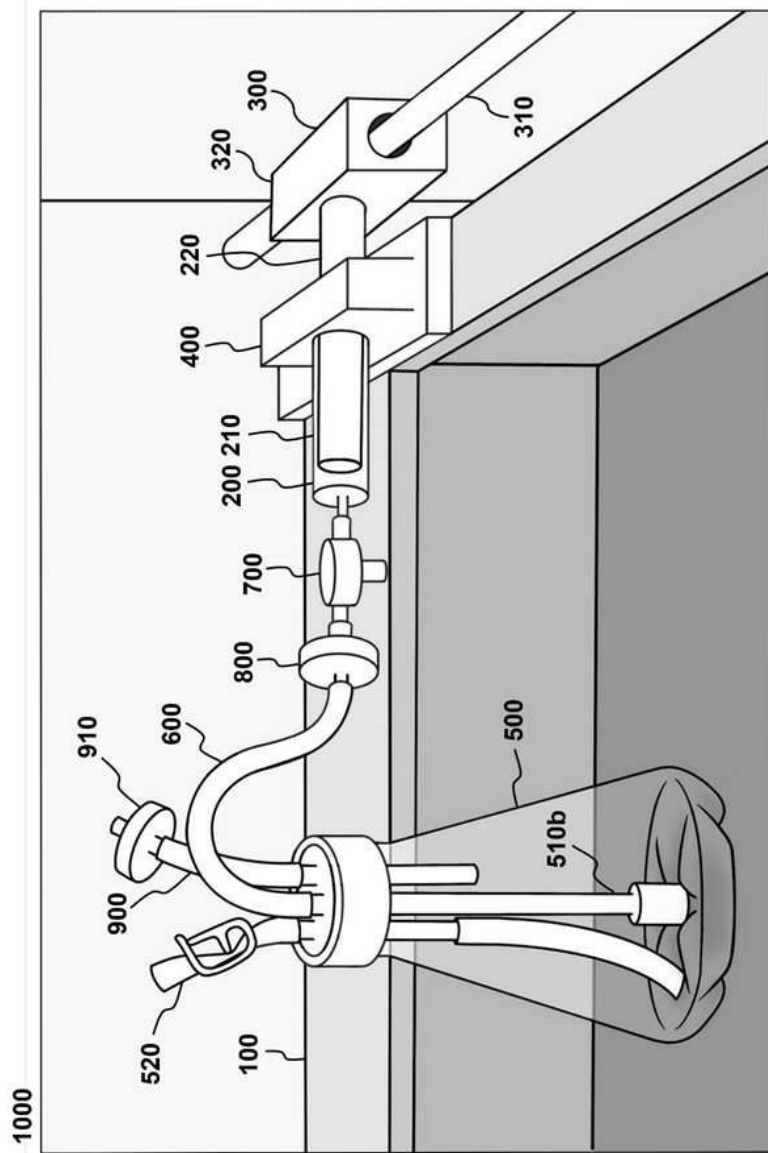
따라서, 본 발명의 효율적인 가스 공급에 의해 배양 조건에 따라 낮게는 12.8%에서 높게는 24.9%의 배양 성능 개선이 이루어졌으며, 본 발명의 장치가 산소를 필요로 하는 미생물에 대해서 범용적으로 사용할 수 있으며 배양 성능을 개선할 수 있음을 확인하였다.

도면

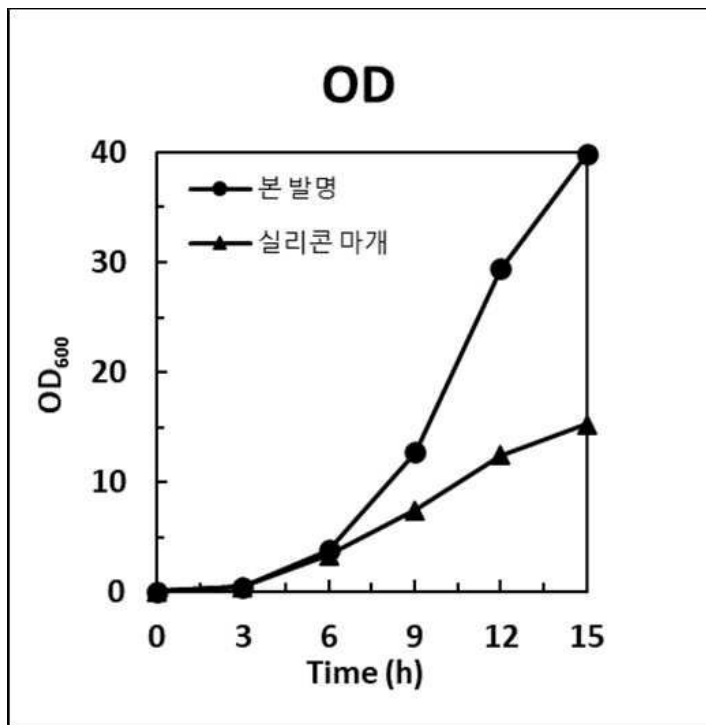
도면1



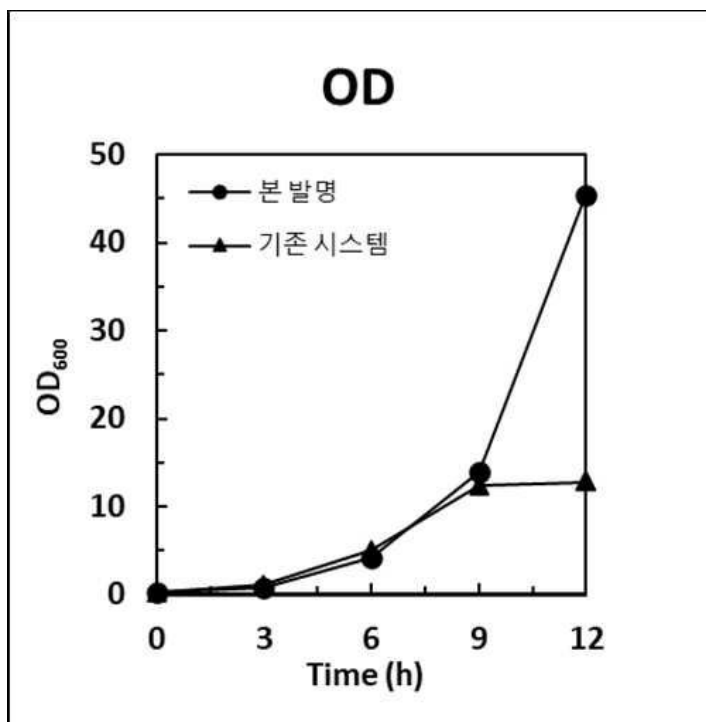
도면2



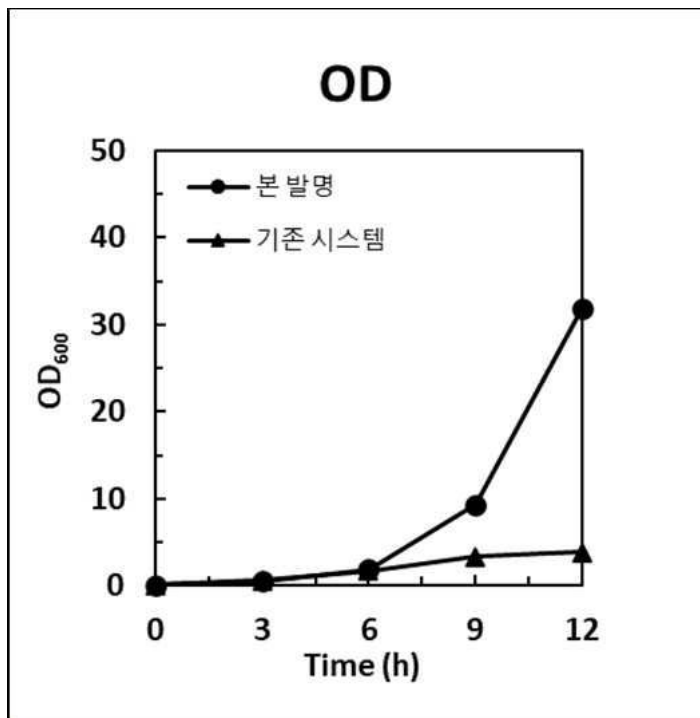
도면3



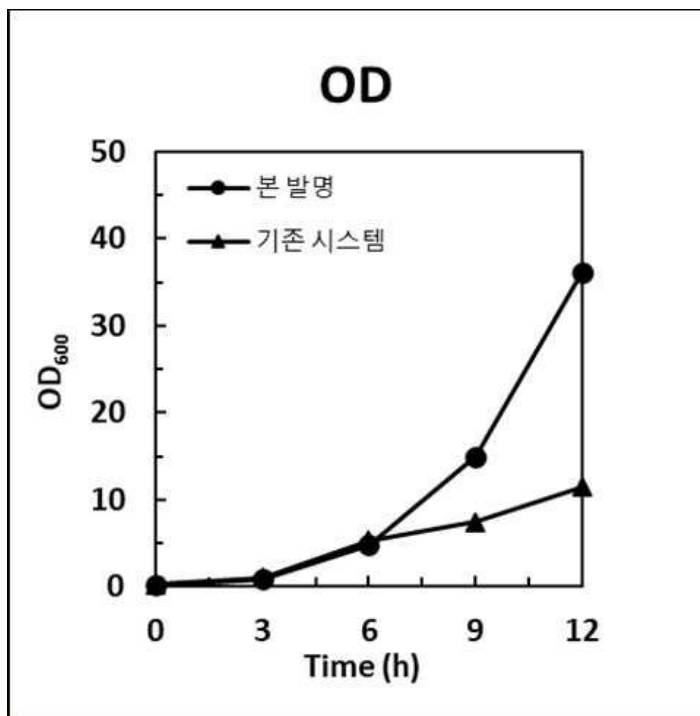
도면4



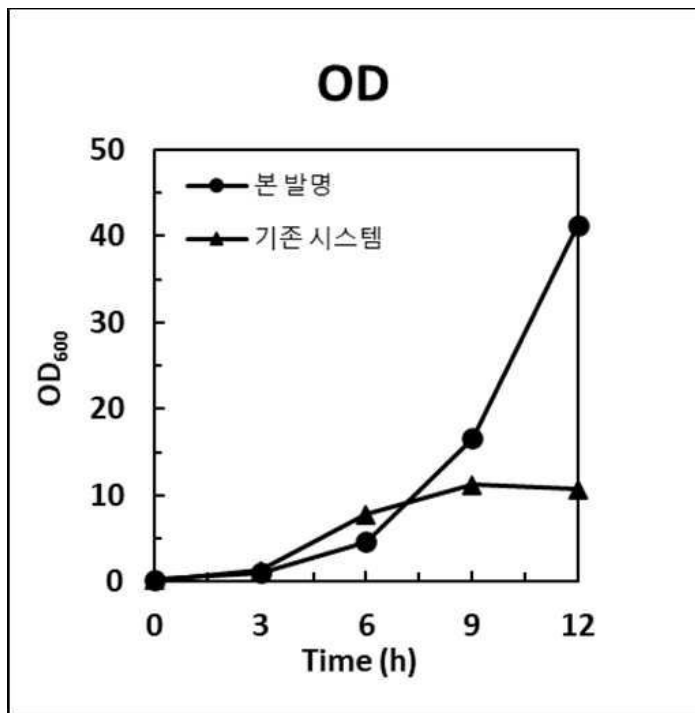
도면5



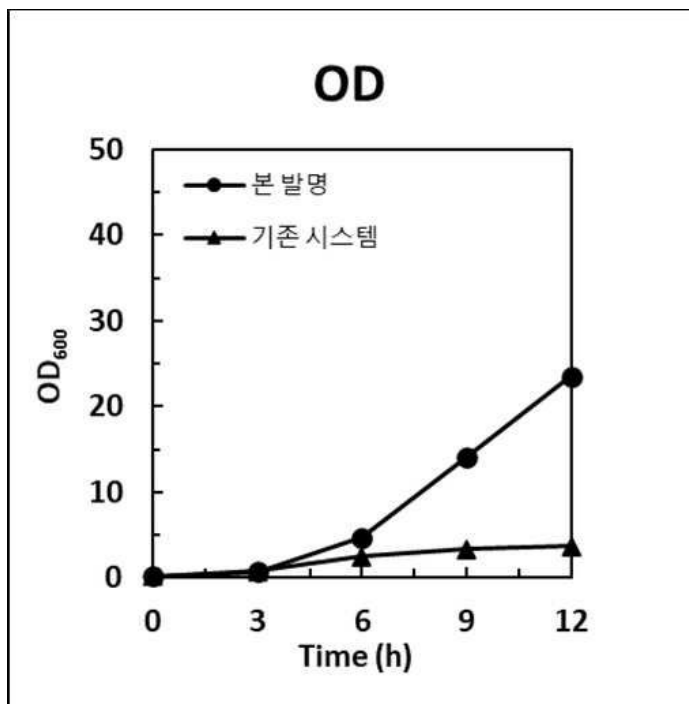
도면6



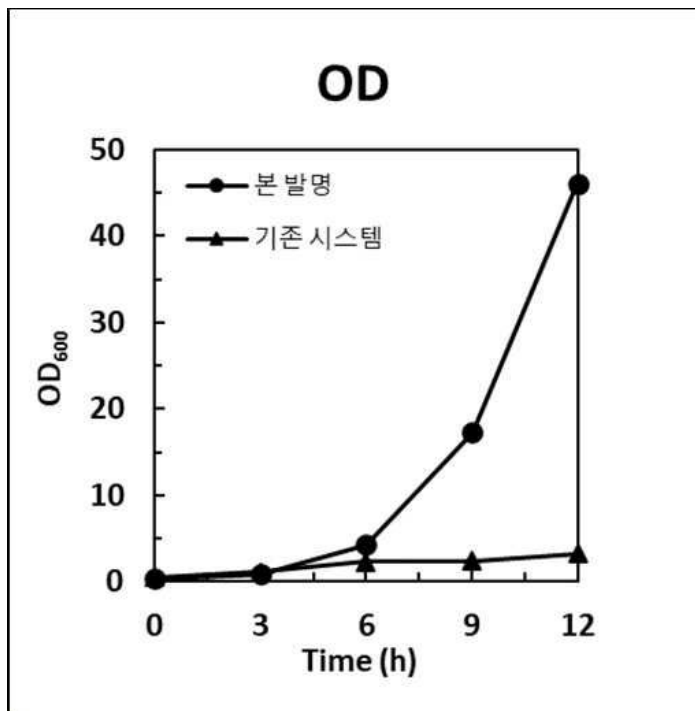
도면7



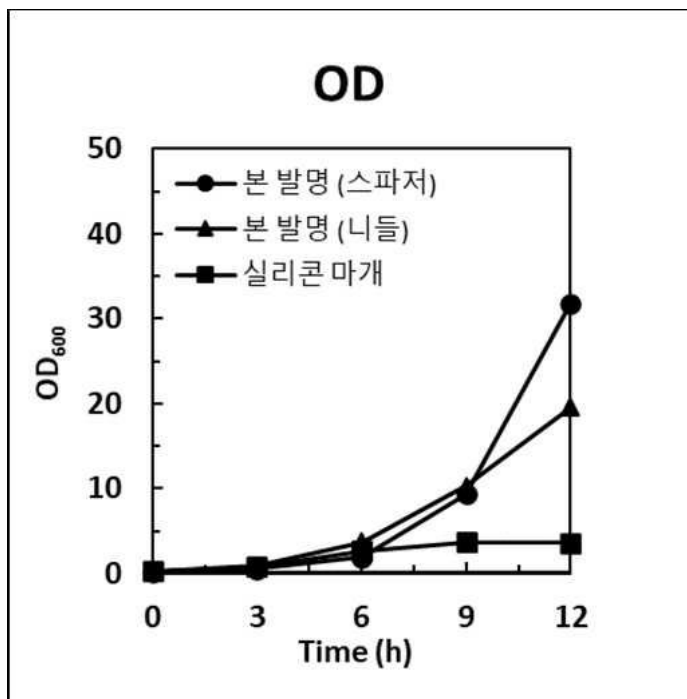
도면8



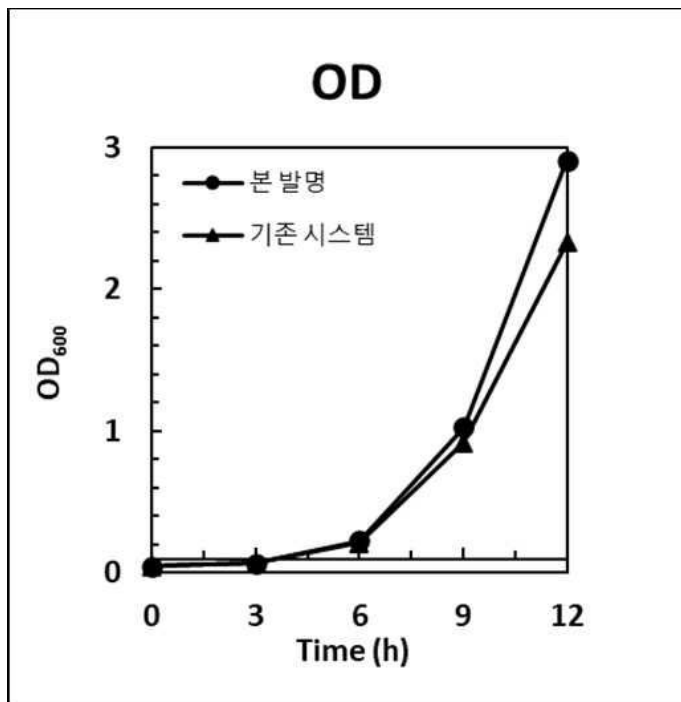
도면9



도면10



도면11



도면12

