

S. baicalensis G. 식물세포의 유가식 배양을 위한 자기 구성 퍼지 제어기의 개발

조진만, 이정진, 최정우, 이원홍, 김익환*, 박영훈*
서강대학교 화학공학과, 유전공학연구소 생물공정그룹*

Self-Organizing Fuzzy Logic Controller Using Genetic Algorithm for the Fed-Batch Cultivation of *Scutellaria baicalensis* G. Plant Cell

J. M. Cho, J. G. Lee, J. W. Choi, W. H. Lee, I. H. Kim* and Y. H. Park*
Department of Chemical Engineering, Sogang University
Biochem. Process Lab, Genetic Engineering Research Institute, KIST*

서론

황금(*Scutellaria baicalensis* G.)의 뿌리는 염증과 발열에 쓰이는 약초로서 간 해독 작용에 효과가 있으며 대사산물인 flavonoid (baicalin, wogonin)는 항암제의 상승 작용을 하는 것으로 알려져 있다[1]. 황금으로부터 유용한 대사산물을 안정적이고 지속적으로 생산해 내기 위하여 세포 배양에 의한 flavonoid의 생산에 대한 연구가 수행되고 있다[2]. 식물세포 배양에 의한 대사산물을 대량생산하기 위해 세포 배양기가 이용되고 있으나 세포 배양기의 제어는 일반적인 발효공정과 같이 상태변수와 제어변수와의 관계를 간단한 함수로써 표현할 수가 없으며 예측을 벗어나는 요인이 존재하기 때문에 퍼지 제어 이론이 적용되기에 적합한 공정이라 할 수 있다[3]. 퍼지 제어기를 구성하기 위해서는 규칙 베이스의 규칙을 선정하는 작업과 언어변수의 조정 등이 필요하다. 일반적으로 전문가의 경험에 의해 규칙 베이스를 구성하지만 전문가의 경험에 의해 구성된 규칙 베이스와 언어변수 모델의 신뢰도에 문제가 있으므로 퍼지 제어기에 적용되는 퍼지 규칙과 universe of discourse의 구성에 어려움이 있다. 최근에는 이러한 단점을 보완하기 위하여 학습 알고리즘에 의한 자기 구성 퍼지 제어기의 구성에 대한 연구가 진행되고 있다[4]. 유전 알고리즘은 자연적 선택과 자연적 유전의 메카니즘을 바탕으로 하는 일종의 탐색 알고리즘으로서 다아윈의 진화론을 적용한 것이다. 한 쌍의 제어규칙에 대한 제어성능을 실수의 값으로 측정하고 유전 연산자인 재생, 교배 그리고 돌연변이 연산자들을 이용하여 유전 알고리즘은 퍼지 규칙들을 자동 생성시킬 수 있다[5].

본 연구에서는 본 연구팀이 제안한 생존 세포의 양을 이용한 구조적 성장 모델을 이용하여 *Scutellaria baicalensis* G. 식물세포 배양에 의한 flavonoid 배당체 생산성 향상을 위한 유가식 운전의 최적 기질 농도를 수립하고, 수립된 기질 농도 궤적을 제어하는 자기 구성 퍼지 제어기를 유전 알고리즘을 사용하여 구성하고자 한다.

이론

유가식 배양기의 운전 전략

황금세포 배양공정을 모델링하고 공정최적화를 위한 기초 자료를 얻기 위하여 식물세포 배양공정에서 공정운전변수인 생존 세포의 양을 광섬유를 이용한 NADH 측정 형광센서로서 측정하고, 이를 바탕으로 진보된 구조적 식물세포 성장 모델을 성립하였다. 제시된 모델을 이용하여 세포 생존도와 glucose 농도와의 관계를 모사하여 *Scutellaria baicalensis* G. 식물세포의 유가식 배양을 위한 기질의 공급전략을 구성하였다. 세포의 빠른 성장을 유도하는 일단계와 세포분열과 성장

을 낮은 수준으로 유지하면서 생산 물질의 생성에 초점을 맞추는 이단계 배양 방법으로서 일정한 두 개의 glucose 농도 사이에서 한번의 계단식 변화를 주는 것으로 기질 공급 전략이 구성되었다. 일단계에서는 flavone glycosides의 생성 뿐만 아니라 세포의 성장을 증진시키기 위하여 glucose의 농도를 22g/L로 유지하고 이단계에서 세포 성장을 억제하기 위해 활동도는 낮게 유지되고 flavone glycosides의 생성을 위해 생존도가 유지되도록 glucose의 농도는 11g/L로 유지시킨다.

자기 구성 퍼지 제어기의 구현

Scutellaria baicalensis G. 식물세포 유가식 배양 공정에서 대사산물의 생성을 최대화하는 기질 농도 제어에 필요한 자기 구성 퍼지 논리 제어기의 구성을 유전 알고리즘을 적용하여 구현하였다. 유전 알고리즘에서는 개체군이라 불리는 데이터의 집단으로부터 적합도(Fitness)에 의해서 한 세대에서 다음 세대로 개체군이 바뀌어 가게 된다. 그리고 이 적합도는 타당한 개체군을 선택해 내는 역할을 수행하게 된다. 여기서 타당한 개체군은 최적의 기질 농도 궤적을 제어하기 위한 퍼지 제어기의 규칙 베이스로서 퍼지 규칙의 생성을 의미한다. 퍼지 제어 알고리즘은 다음의 과정을 따른다. 1)퍼지 변수의 퍼지화 즉 기질 농도의 오차의 변화, 전체 세포의 건조 중량, 전체 세포의 건조 중량 변화로 나타내는 glucose 농도, 전체 세포의 건조 중량 등의 퍼지 변수를 귀속도 함수를 이용하여 퍼지화한다. 2)퍼지화 변수와 퍼지 제어 동작 즉 기질의 공급 속도를 결정하는 제어규칙을 min-max 조합으로 추론 3) center of gravity에 의한 기질 공급 속도의 비퍼지화. 자기 구성 퍼지 제어기의 개략도와 자기 구성 퍼지 제어 알고리즘을 Fig. 1과 Fig. 2에 각각 나타내었다.

실험

세포 배양 방법과 모델식 수립을 위한 회분배양실험

본 연구에서는 *Scutellaria baicalensis* G. 세포배양을 통하여 baicalin 및 wogonin-7-O-GA 등의 flavonoid를 생산하였다. 현탁 및 고체 배양에서 각각 계대 배양과 Flavonoid 배양체 생산에 PSH 배지와 FPM 배지를 사용하였다.

모델식 수립을 위한 회분 배양 실험에서는 지수 성장기 말기에 있는 세포의 생체 중량으로 1g을 50mL 배양액을 담은 125mL Erlenmeyer flask에 접종하여 배양하였으며 매일 시료를 채취하여 세포 중량 측정과 세포 내부 생성 물질 분석을 수행하였다. 여액은 세포 외부 생성 물질 및 당농도 분석에 사용되었다.

결과 및 토론

퍼지제어규칙

유전 알고리즘에 의해 퍼지 규칙과 매개변수들이 최적화시에 유전 알고리즘에 초기에 삽입하는 매개변수의 값은 다음과 같다. 개체군 크기:20, 각 스트링의 길이:252, 교배연산 확률속도:1.0, 변이연산 확률속도:0.03. Fig. 3은 각 세대별 적합도를 나타낸 것으로 세로축은 glucose 농도 설정치에서 벗어난 정도, 즉 오차합의 역수를 나타낸다. 최대, 평균, 최소의 적합도는 거의 세대수에 비례하여 증가함을 보인다. 최대 적합도는 28번째 세대에서 나타난다. 최대, 평균, 최소의 적합도 사이에 작은 차이를 가지고 있다 할지라도 개체군은 최대값을 가질 수 있다. 따라서 이러한 차이는 제안된 유전 알고리즘이 가지는 특성에 의한 편차로 간주한다. 28번째 세대에서 생성된 귀속도 함수와 퍼지 제어 규칙이 *Scutellaria baicalensis*

G. 식물세포의 유가식 배양 공정의 제어에 이용된다.

유가식 배양공정

Fig. 4는 자기 구성 퍼지 제어기의 제어 성능에 관한 현상 모사 결과로서 최적 glucose 농도 궤적을 유지하는데 좋은 제어 성능을 나타냄을 보여주고 있다. 유전 알고리즘으로 구현한 자기 구성 퍼지 논리 제어기는 최적의 기질 농도 설정치에 대한 공정 변수 오차 합을 줄임으로써 설정치에 수렴하도록 하여 제어기 성능을 향상시켰다. Fig. 5와 Fig. 6은 각각 배양 공정을 통해 생산된 세포의 건조 중량과 flavone glycosides의 현상 모사 결과를 나타낸다. 현상모사결과 건조 세포 중량이 12일 경에 최대 23.3g/L로 얻어졌으며 이는 실제로 건조 세포 중량 75 g/L까지는 충분한 혼합을 위해 설계한 hollow-paddle 형태의 교반 날개를 장착한 교반탱크 배양기에서 얻어질 수 있다[6]. Baicalin과 wogonin-7-0-GA의 생성량은 13일 경에 3.57g/L와 1.41g/L이며 비생산수율은 0.294(g/gDCW)와 0.146(g/gDCW)로써, 자기 구성 퍼지 제어기를 이용한 이단계 배양이 회분식 배양에서보다 생산성과 비생산수율이 높게 나타남을 알 수 있었다.

제안된 *Scutellaria baicalensis* G. 식물세포의 유가식 배양공정에서 기질의 공급 전략, 즉 이단계 배양법은 목적 생산물 flavone glycosides의 생산을 향상시켜 주었으며 flavone glycosides의 생산을 최대화하기 위하여 설정된 기질의 농도 궤적은 유전 알고리즘으로부터 자동 생성된 퍼지 제어 규칙에 의해 성공적으로 제어되었다.

참고문헌

- [1] Lee, Y. H., You, K. H., Kim, S. Y. and Ahn, B. Z.: *Yakhak Hoeji*, 35 203(1991)
- [2] Seo, W. T., Park, Y. H. and Choe, T. B.: *Plant Cell Reports*, 12 414(1993)
- [3] Postlethwaite, B. E.: *Chem. Eng. Res. Des.*, 67 267(1989)
- [4] Choi, J. W., Park, J. K., Lee, K. S. and Lee, W. H.: *Proceeding of First Asian Control Conference*, 305(1994)
- [5] Dejong, K.: *Machine Learning*, 3 121(1988)
- [6] Matsubara, K. S. Kitani, T. Yoshioka, T. Morimoto and Y. Fujita: *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 46 61(1989)

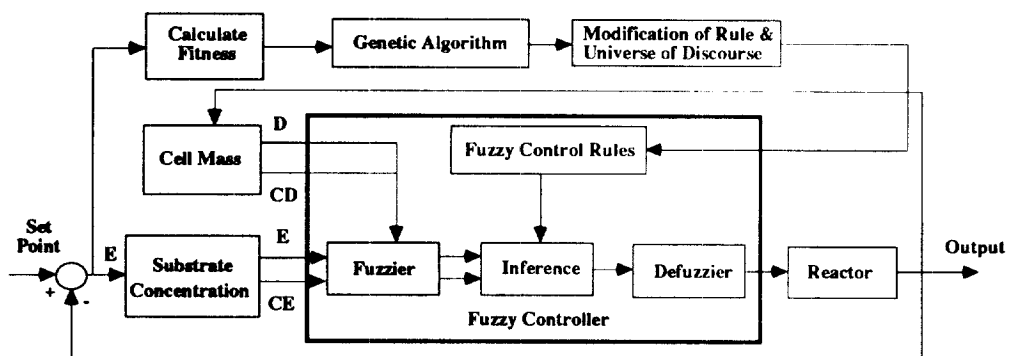


Fig. 1 Schematic diagram of self-organizing fuzzy logic controller

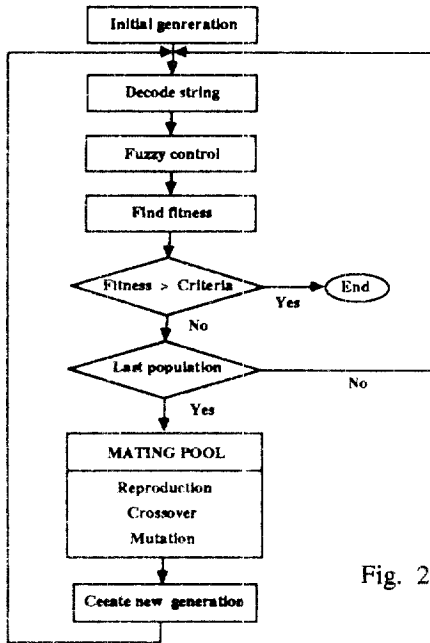


Fig. 2 Flow chart of genetic algorithm

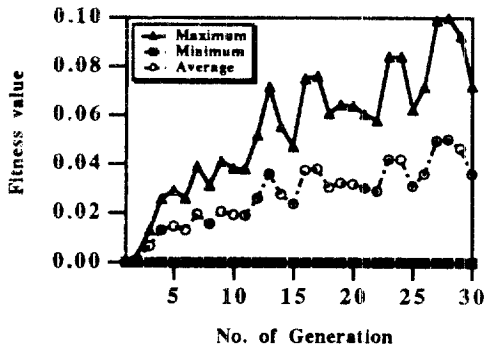


Fig. 3 Fitness value of individual generation

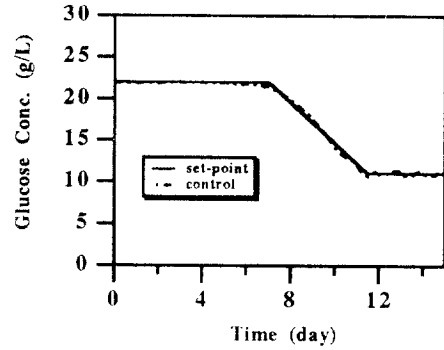


Fig. 4 Simulation result of glucose concentration in fed-batch culture

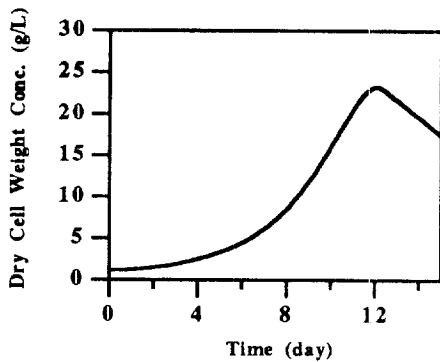


Fig. 5 Simulation result of dry cell weight in fed-batch culture

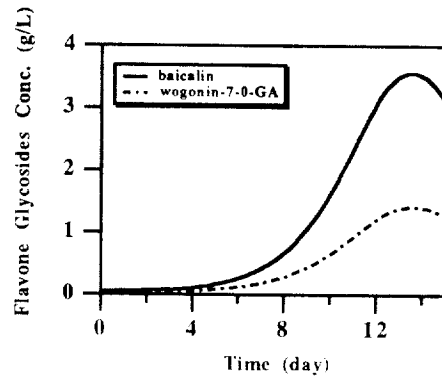


Fig. 6 Simulation result of baicalin and wogonin-7-O-GA in fed-batch culture