

Xylan 생분해의 분자수준의 분석

최 용 진

고려대학교 생명공학원

멀지 않은 장래에 우리 인류가 직면하게 될 것으로 예측되고 있는 에너지 위기와 식량난에 대한 가장 효과적이고 또 가장 잠재성이 큰 대처방안 중의 하나는 Biomass 자원의 효율적 활용이라고 하겠다. 더욱이 우리 나라와 같은 부존 에너지 자원이 절대적으로 부족한 국가로서는 Biomass 자원을 이용한 대체에너지 개발문제는 가장 심각한 당면문제가 아닐 수 없다.

실제, 에너지원으로 재생 가능한 Biomass 자원으로서는 식량과 경합되지 않는 목재, 농산 및 임산 폐기물 등이 있으나 현재까지는 많은 관심이 Glucose 만의 중합체인 Cellulose 자원에만 집중되어 왔다고 하겠다. 그러나 Cellulose는 산과 알칼리에 의해서도 쉽게 분해되지 않으며 특히 생물학적 분해에는 매우 큰 저항성을 나타내는 극히 견고한 구조를 갖고 있다. 따라서 지금까지의 많은 노력에도 불구하고 Cellulose의 효과적인 에너지자원으로서의 전망은 아직도 확실치 않는 것으로 평가되고 있다. 반면, Hemicellulose는 Cellulose 다음으로 풍부한 Biomass 자원으로 식물에 따라 분자구조의 많은 차이가 있으나 Xylan 이 주성분이 되고 있으며 특히 경질목재의 경우는 Xylan이 건물량의 15-35%를 차지하고 있다고 한다.

이와 같이 Xylan은 자연계에서의 그 분포량이 막대할 뿐만 아니라 일반적으로 Cellulose에 비해 훨씬 쉽게 효소 분해되어 고가의 오탄당인 D-xylose를 다량생산 할 수 있는 다당류이다.

D-xylose는 그 자체로서도 다양한 용도를 가지고 있는 고가의 당일뿐만 아니라 에탄올을 비롯한 각종 유기화합물 생산을 위한 우수 발효기질로도 이용 될 수 있는 매우 유용한 당이 되고 있다. 따라서 Xylan은 연구노력에 따라 여러 부문에서 매우 유용하게 활용 될 수 있는 중요한 Biomass 자원이 될 수 있을 것으로 판단된다.

그러나, 이와 같은 Xylan은 상술한 바와 같이 그 구조가 매우 복잡하여 β -1,4-polyxylose 주 탄소쇄에 Acetic acid, Arabinose 및 α -glucuronic acid 등의 다양한 측쇄분자를 가지고 있을 뿐만 아니라 Phenolic coupling에 의해 Xylan 분자 상호간 또는 Xylan과 Lignin 분자가 서로 cross-linking 되어있다. 그러므로 Natural xylan의 완전가수분

해를 위해서는 β -1,4-interglycosidic linkage 절단효소인 Xylanase와 β -xylosidase는 물론이고 축쇄 결합 내지는 분자상호간의 cross-linking을 효과적으로 절단할 수 있는 acetyl xylan esterase, α -arabinofuranosidase 및 α -glucuronidase 등의 각종 탈축쇄효소 (Debranching enzymes)간의 효율적 협동작용이 필수적이라고 보고되고 있다.

본 발표자의 연구실에서는 거의 모든 Xylan 분해계 효소를 세포내외로 다량 생산하는 것으로 확인된 *Bacillus stearothermophilus*로 동정된 강력한 Xylan 분해 세균을 토양으로부터 분리, 지난 10여년간 Xylan 효소분해와 관련된 연구를 계속해오고 있다. 본 발표에서는 그 동안 본연구실에서 얻은 Xylan 분해효소와 관련된 중요 연구결과와 앞으로의 연구계획을 다음의 네 부문으로 나뉘어 간단히 요약, 보고 드리고자 한다.

1) Xylan 분해효소 생산유전자의 클로닝과 분리유전자 및 유전자산물의 특성 규명.

Xylan분자의 β -1,4-polyxylose 주결합쇄 절단에 관계하는 두 Xylan 분해주효소인 Xylanase와 β -xylosidase 생산 유전자와 Acetyl xylan esterase, α -Arabinofuranosidase 및 α -Glucuronidase 등의 탈축쇄효소 생산유전자들을 *B. stearothermophilus* No.236 균주의 게놈으로부터 분리, *E.coli* 에 클로닝하고 이들 유전자와 유전자산물의 분자수준에서의 주요 특성을 조사하였다.

2) Xylan 분해효소들의 협동작용에 의한 Xylan분해의 상승효과.

β -1,4-polyxylose 주결합쇄 절단에 관계하는 Xylanase 와 β -Xylosidase의 Xylan분해 두 주효소 상호간의 협동작용 내지는 상기 Xylan 분해 주효소와 각종 탈축쇄효소 간의 협동작용에 의한 Xylan분해에 있어서의 분해상승효과를 분석하였다.

3) Xylanase와 β -Xylosidase 생산유전자 발현조절에 관련된 Carbon Catabolite Repression.

Xylan 분해에 관련된 주요 효소인 Xylanase와 β -Xylosidase의 생합성은 Xylan에 의해 Induction 되며 또한 Glucose 존재에 의해서는 효소 생합성이 크게 저해를 받고 있음이 관찰되었다. 따라서 상기 두 Xylan 분해효소의 경제적 대량생산을 위한 기초연구로서 Catabolite Repression Mechanism 과 관련된 연구를 실시 한 결과, 상기 두 효소 생산유전자의 발현은 *Bacillus subtilis*로 대표되는 Low GC Content를 가진 gram-positive 세균들이 나타내는 전형적인 Promoter-Independent Carbon Catabolite Repression

Mechanism에 의해 조절되고 있음을 확인할 수 있었다.

4) Xylanase 생합성 조절.

*B. subtilis*에서의 Recombinant xynA 유전자 발현은 Core Promoter로부터 위쪽으로 약 200 bp 정도의 Upstream Region의 DNA를 가지고 있을 때는 Core Promoter 만을 가지고 있을 때에 비해 약 6 배정도 더 증대되고 있음이 효소생산량 내지는 Xylanase 유전자의 전사산물(xynA gene transcript)의 합성량 측정에 의해 확인되고 있다. 또한 이와는 별도로 Xylanase 생산유전자 바로 아래쪽에 위치하고 있는 새로운 유전자(xaiF : Xylanase Activity Increasing Factor)의 발현산물인 XaiF 에 의해서도 약 6-8배 정도의 효소생산량의 증대를 보이고 있다. 현재까지 본 연구실에서 진행되고 있는 상기 두 Xylanase 생합성 증진 조절기작 규명과 관련된 연구의 진행상황도 함께 보고드릴 예정이다.