

# 고도호열성 미생물로부터 내열성 효소의 개발

## 변 유 량

### 연세대 생명공학과

호열성유래 미생물효소는 내열성이 높을 뿐만아니라 비자연적인 환경조건(고온, 유기용매, pH, 계면활성제)에 내성이 강하므로 신기능성, 신반응성 효소의 탐색개발이 가능하여 최근 활발히 연구되고있다. 따라서 호열성 미생물 이용 연구를 두가지 측면에서 수행하였다. 즉 (1) 아직 보고되지 않은 새로운 고도호열성 내지 초호열성 균주의 탐색과 이들균이 생산하는 유용 유전자연구, (2)산업적으로 유용한 새로운 효소생산 호열성 균주의 탐색이다. 인도네시아는 천연자원의 보고로서 아직 인류의 손에 의해 탐색되지 않은 다양한 자연환경을 가지고 있으며, 특히 화산지대, 온천지역이 널리 분포되어 있어, 인도네시아 보골대학과 국제협력연구를 추진하였다.

국내 13개 온천 시료로부터 60℃이상에서 생육하는 호기성 호열성 미생물 37종을 분리하였으며, *Bacillus smithi*(24.3%)와 *Bacillus thermoleovorans*가 우점종(16.2%)을 이루었다.

열대고온환경시료로부터 3종의 신균주를 분리하고 *Thermoanaerobacter yonseiensis* (Topt=75℃), *Thermoproteus javensis* (Topt=90℃), *Thermoaerobacter cisolokensis* (Topt=75℃)로 명명하여 보고 하였다. 특히 신균주 *T. yonseiensis*로부터 현재까지 보고되지 않은 novel enzyme인 내열성 glucose isomerase, protease(thermicin), DNA polymerase(Tay)의 유전자를 확보하고 그 효소학적 특성을 밝혔다.

산업적으로 유용한 효소생산 신균주의 탐색연구는 내열성 lipase, keratinase, chitinase, chitin deacetylase, L-arabinose isomerase를 대상으로 하였다. 인도네시아 화산지역 시료로부터 분리한 *Bacillus thermoleovorans* ID-1은 65℃에서 비증식속도가 2.5h<sup>-1</sup>로 현재까지 보고된 lipase생산균주중에서 가장 생육속도가 빠르며, 3종류의 내열성 lipase를 생산하여 광범위한 지질분해 특성을 나타내었다. 60℃, 혐기적 조건에서 24~48h안에 닭 깃털을 완전히 분해하는 우수한 keratinolytic protease생산균주를 선발하였으며, keratinase활성이 보고되지 않은 *Fervidobacterium icelandicum* AW-1으로 동정되었다. 또한 Bogor대학의 Maggy교수와의 공동연구를 통하여 chitinase와 chitindeacetylase활성이 우수한 *Bacillus sp.* K-22균주를 western JAVA의 Kamojang crater시료에서 분리하였다.

Tagatose는 설탕을 대체할 수 있는 가장 이상적인 기능성 저칼로리 감미료로서 화학이성화법에 의해 2003년 산업화 될 것으로 예상되고 있다. 화학이성화를 대체할 수 있는 효소이성화공정을 개발하기 위하여 D-galactose를 D-tagatose로 이성화하는 L-arabinose isomerase(AI)를 탐색한 결과 AI활성을 나타내는 호열성 균주 30여종을 확보하였으며, 특히 *Thermotoga neapolitana*의 AI가 현재까지 보고된 AI중에서 효소활성과 내열성이 가장 우수한 것으로 추정되어( $T_{opt}=85^{\circ}\text{C}$ ) 국제특허를 출원하였으며, 재조합 *E.coli*의 고정화에 의한 효소전환공정을 개발하였다.

오늘날 효소의 과학과 산업에 패러다임이 바뀌고 있어 gene diversity를 확보하기 위하여 고온환경시료로부터 직접 DNA를 추출하여 genomic library를 구축하고 있으며, 이들로부터 신기능성, 신반응성 효소의 탐색, 개발연구를 강화하고 있다.