

遺伝子 操作에 의한 微生物育種

裴 武

(KAIST·응용미생물연구실장)

I. 머리말

1973年 試驗管내에서 遺伝子DNA를 操作하는 技術이 Cohen 등에 의해 소개되고 美, 이리노이大學의 Chakrabarty 등이 *Pseudomonas* 屬이 가진 plasmid의 特定遺伝情報를 種間에 導入시켜 石油廢液中の 炭化水素成分을 資化하는 菌株를 育種해내므로서 이 育種菌은 米 國 特許청으로부터 特許되었다. 特許菌의 社会的 意義도 크나 技術的으로는 化学工業, 製紙工業 都市下水에서 나오는 phenol, 有機酸, 炭化水素등을 分解하여 處理하는데 쓸 수 있는 優良微生物을 만들어 낼수 있는 可能性을 제시하게 되었다.

그리하여 遺伝子操作技術은 基礎研究는 물론 産業的 利用에도 크게 관심사로 부상되고, 微生物을 利用해 高等動物의 遺伝子産物인 peptide홀몬을 量産하게되므로서 이는 바로 醱酵工業에 있어서의 가장 重要한 菌株育種을 향한 遺伝子操作技術 利用이란 새분야로 관심을 모으게 된 것이다.

지난 數年間에도 大腸菌에 의한 somatostatin, insulin 인간成長홀몬, interferon 등 peptide 내지 蛋白質로된 生理活性物質 그리고 肝炎백신등을 微生物로 生産하는 方法이 成功되었다는 보고와 그 生産이 곧 量産되리라는 보고를 들을때 遺伝子操作技術이 얼마나 急速히 實現되어가고 있나를 알수 있다. 微生物이 지닌 多樣한 生理活性和 代謝를 利用하여 人類에게 필요한 物質을 生産해낸것은 지금까

지도 食品工業 製藥工業 化学工業등에 큰 役割을 해온것이 사실이나, 遺伝子操作技術의 應用으로 有用物質의 醱酵에 生産性 向上은 물론이거니와 醱酵生産이 量的으로 어려웠던 生理活性物質, 에너지資源物質, 食糧資源物質을 遺伝子를 크론화시켜 量産하고 또 農業에 利用될 수 있는 질소固定化菌의 育種 및 高等動物의 遺伝子를 利用 새 物質生産에 혁신이 기대된다.

II. 오늘날까지의 菌株育種

알콜醱酵나 酢酸醱酵와 같이 고전적인 발효에서는 자연 그대로의 現象만을 이용해도 어느정도 그 목적으로하는 産物을 생산할 수 있었고 제 2차 대전까지만 하여도 발효공업은 본격적인 菌株育種이란 概念을 도입하지 못하였다. 그러나 페니실린 발효생산이 본격화될 무렵부터는 발효공업의 눈부신 발전을 가져다준 이면에는 有用微生物의 檢索과 집중적인 育種이 발효공업의 발전을 지탱하는 큰 要因이고 방법론이었던 것이다. 다시 말하면 自然界에서부터 有用한 微生物을 檢索하는 소위 random screening法이다. 抗生物質등 어떠한 목표의 物質을 生産하는 微生物을 찾아내기 위하여 수백·수천의 土壤試料를 전국에서 혹은 외국까지 손을 벌려 수집한다음 그 토양시료로부터 수백·수천의 微生物을 純粹히 分離하고 培養하여 목표물질을 生産하는 能力을 조사하므로서 行해졌다. 이 방법은 목적의 달성에는 可能性

을 찾아갈뿐 보장된 것이 아닌 것이다. 방법론 으론 위험이 항상 있는 것이나 오늘날의 항생 물질이 수없이 발견되고 그중 일부가 인류의 질병을 고쳐주는데 큰 공헌을 하고 있는데 이들이 모두 치열한 검색결과 발견된 것이고 개발된 것이다.

미생물 중에서 유용미생물을 검색하는 데에 는 위에서 말한 위험이 항상 뒤를 따르긴 하지만 흙 1그램속에는 수많은 종류의 미생물이 서 식하고 있고 그 수도 場所와 環境에 따라 다르긴 하지만 수십만, 수백만이란 엄청난 미생물이 그속에 있고, 다양한 生理作用을 지닌 미생물을 포함하고 있기때문에 오늘날 많은 종류의 醱酵産物을 내는 미생물이 개발되고 實用化 되고 있는 것이다. 有用微生物을 검색해내는 과정과 함께 그菌의 이용에는 목적산물의 생산收率의 向上이 경제성을 지니게 하는만큼 그 기술의 측면에서 보면 培養條件이나 醱酵工學的 기술의 향상도 필요하나 가장 주요한 것은 역시 利用菌株의 育種인 것이다. 페니실린을 예로 보아도 개발의 초기에는 m^l당 수십단위의 생산이던 것이 오늘날에 와서는 數萬單位로 만배의 收率向上을 이룩하기에 이른것은 菌株의 遺傳學的 改良이 이를 뒷받침하고 있는 것이다. 다만 이경우 遺傳學的 改良이라 할지라도 유전자操作의 手法이 아닌, 물리적 혹은 화학적 방법에 의한 突然變異의 수법이고 그것도 우연성에 依存한 돌연변이에 의한 育種法인 것이다. 인간은 지금까지 우연을 기대한 검색과 돌연변이에 의존하여 새로운 生理活性物質을 많이 개발하므로써 아미노산, 抗生物質, 酵素, 核酸呈味成分, 菌體蛋白등 많은 유용한 물질을 개발해왔고 오늘날도 계속해서 抗癌物質 免疫促進劑등 많은 생리 활성물질은 개발하고 있으나 초기에 비하면 새로운 有用物質의 발견 개발은 점점 어려워지고 있다. 이 시점에서, 遺傳子操作에 의한 育種技法이 가능시 됨에 따라, 비록 유전자조작기술은 자연계에

서 이미 알려진 遺傳情報를 細菌에 옮겨 생산하는 범위에 제한되고 있는감이 있긴하나, 유용한 산물의 관련 유전정보를 집중적으로 옮겨 넣을 수 있다는 점에서 발효공업의 菌株育種에 혁신적 기술인 것이다.

Ⅲ. 細胞融合에 의한 菌株育種

細胞融合技術이란 문자 그대로 두종류의 細胞를 특수한 조건에서 融合시켜 양측 성질을 함께 가진 새로운 細胞 또는 生物을 만들어 내게하는 기술인 것이다.

生殖細胞끼리의 融合과는 기본적으로 틀리는 것으로서, 異種의 “種”간에도 融合이 可能케 하는 技術을 말한다.

細胞融合技術은 크게 3段階로 区分하여 볼 수 있다. 첫째 段階가 微生物細胞의 外壁인 細胞壁은 融合에 障害가 되므로 이를 除去시키는 protoplast形成段階, 두번째 段階가 두종류의 protoplast를 融合시키는 技術, 세번째 段階가 融合한 細胞를 再生시켜 培養시키는 技術이다. 動物細胞에서는 細胞壁이 없기 때문에 직접融合시킬 수 있으나 增殖能에 문제가 있어, 새로운 技術로서 1975년에 hybridoma法이 개발되어 應用되고 있으나 여기서는 취급하지 않겠다.

1. 微生物 Protoplast의 形成

Protoplast의 融合으로 DNA의 轉移를 이르고 組換體를 형성시키기 위해서는 우선 菌의 細胞壁을 除去시켜야 한다. 그 操作을 간단히 설명하면 Brevibacterium屬의 경우는 對數增殖中期(1×10^8 cells/ml)에 penicillin G 0.3 u/ml로 處理한다음 90分후에 集菌, 高張液中(0.41M sucrose)에서 $300 \mu\text{g/ml}$ 의 lysozyme 함유 生育培地에서 약 16시간 靜置培養하면 protoplast化 된다. 放線菌에서도 역시 lysozyme處理에 의하여 protoplast를 形成시킬수

있다. 形成된 protoplast를 正常細胞로 復歸시키기 위한 條件에 대해서도 여러가지 因子와 條件이 검토되고 있으며 菌種에 따라 약간의 차이가 있다. 또한 復歸率도 菌마다 다르게 보고되어 있다.

正常細胞에의 復歸에는 培養 7일부터 12일 사이에 코로나가 완만하게 나타나며 非同調的(asynchronous)인 것이 상례이다.

두터운 細胞壁을 가진 酵母細胞의 경우 mercaptoethanol 등 thiol化合物로 酵母細胞를 處理하여 달팽이消化液(helicase, gluculase)나 細菌의 細胞壁溶解酵素를 써서 쉽게 protoplast를 調製할 수 있다. 또 酵母 protoplast의 凝集·融合은 곰팡이에서와 같이 Ca^{2+} 이온 존재하에 20~40% PEG에 의하여 높은 融合을 달성할 수 있다. 酵母에서는 種內交雜(intraspecific), 種間交雜(interspecific) 및 屬間交雜(intergeneric) 등 雜種造成에 많은 성공예가 있다.

2. Protoplast의 融合과 組換體의 形成

Polyethylene glycol(PEG)이 植物의 protoplast를 効率 좋게 融合시킨다는 보고가 있는 후부터 이 약품은 細菌 酵母 곰팡이 그리고 放線菌의 protoplast融合에도 利用되고 있다. 異種의 protoplast 사이에 일어나는 組換體의 出現頻度を 알기 위해서는 서로 다른 遺傳的標識(抗生物質의 耐性 등)을 가진 菌株의 出現頻度を 測定하므로써 간접적으로 알 수 있다. PEG의 分子量 및 그 濃도가 protoplast의 融合에 중요한 因子이며 分子量 4000의 PEG가 分子量 1840 또는 6000의 것에 비해 效果의인 融合劑(fusogen)으로 알려지고 있다.

各各 다른 遺傳標識을 가진 菌株의 融合후 選擇된 培地上에 出現한 clone의 遺傳的性質을 分析을 하므로써 細胞融合法으로 遺傳的 組換이 일어남을 알 수 있다. PEG에 의하여 유발되는 protoplast의 融合은 오늘날 物理的

現象으로 추정되고 있다.

3. 融合에 의한 Hybrid의 遺傳的 解析

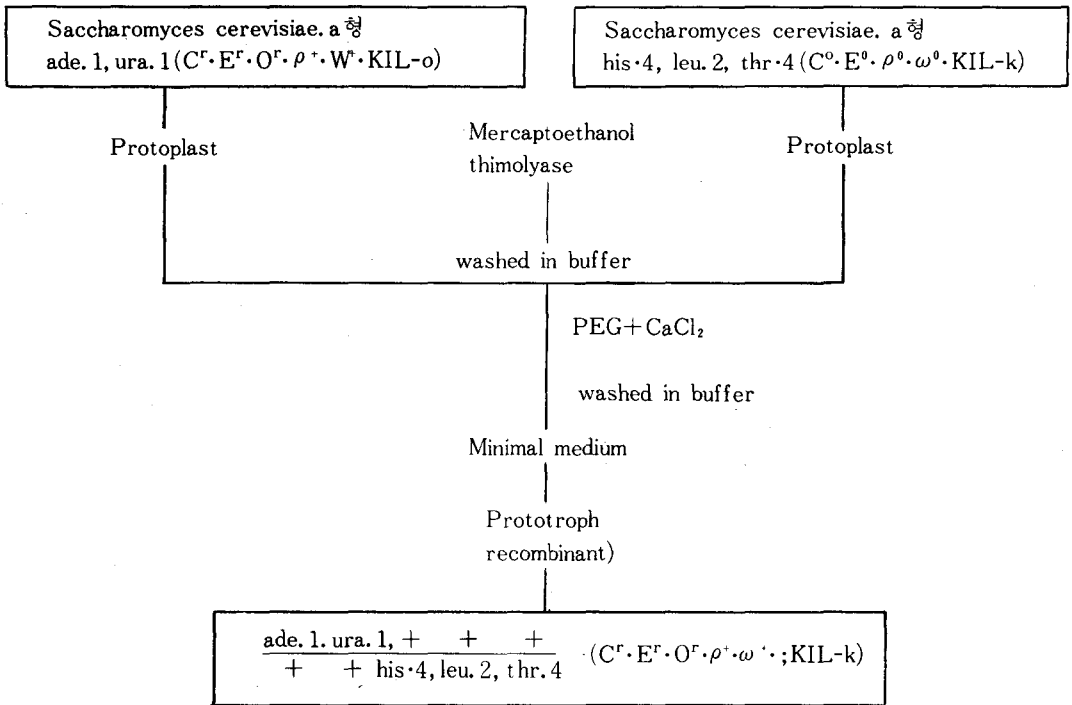
融合에 의하여 形成된 hybrid를 遺傳學的으로 證明하기 위해서는 遺傳子標識(營養要求性 또는 抗生物質耐性)으로 특징이 부여된 菌株를 이용하여 protoplast를 調製할 필요가 있다. 相補的인 營養要求性 標識을 가진 菌株를 protoplast融合시킨후 最小培地를 써서 prototroph의 出現狀態를 조사하므로써 쉽게 融合體를 選擇해낼 수 있다. 一般的으로 融合을 判定하는데에는 遺傳子解析외에 核의 細胞學的 觀察, 細胞形態의 比較, 細胞의 크기, DNA含量的 比較測定, 炭素源의 資化性의 方法이 쓰여지고 電子顯微鏡으로 조사하기도 한다.

Saccharomyces cerevisiae의 同型接合型을 가진 細胞로서 雜種을 形成시킨 것이 그림과 같다. 核遺傳子 標識으로서 營養要求性和 細胞質 遺傳子標識(mitochondrial DNA)로 支配되는 呼吸能 抗生物質耐性 藥劑耐性標識의 組換極性 및 2重사슬 RNA로 支配되는 細胞質킬러遺傳子)을 가진 두種의 接合型 1倍體酵母로서 protoplast를 形成시키고 PEG로 處理하여 融合시킨 결과이다. prototroph를 分離해본 결과 呼吸正常(ρ) 抗生物質耐性($C^R E^R O^R$)이고 킬러形質을 發現(KIL-k)하여 양 protoplast는 細胞質融合(plasmogamy)을 완전히 달성했음이 증명되었다. 對立接合型(a와 α)의 細胞交雜에서는 細胞質融合에 이어 核融合(karyogamy)가 일어난다.

IV. 遺傳子組換技術(Recombinant DNA)에 의한 菌株 育種

새로운 菌株育種技術로서 細胞融合技術과 함께 遺傳子組換技術을 들 수 있다.

이 技術이 概要를 우선 말하자면 ① 有用한 遺傳情報를 지닌 遺傳子를 分離해내거나 合成



〈그림 1〉 효모 Protoplast 융합

- 1) ade. ura. his. leu. thr. : 핵산 및 아미노산 요구를 지배하는 auxotroph.
- 2) 숫자는 유전자 위치 번호.
- 3) C^r.E^r.O^r. : Chrolamphenicol, Erythromycin, Oligomycin의 내성
- 4) ρ.ω. : 호흡능, 약제내성, 조환극성을 지배하는 mitochondrial gene
- 5) KIL : 세포질 킬러 유전자

하는 공, ② 有用한 遺傳子를 生體工場의 역할을 하는 微生物속에 운반할수 있는 벡터를 만들어 이어주는 공, ③ 有用遺傳子를 실은 벡터를 微生物細胞내에 넣어주는 공, ④ 넣어준 有用遺傳子가 細胞내에서 安定하게 自己 複製를 하여 增幅시키므로서 目的物質을 生産 시키는 공으로 나누어 볼 수 있다. 기술적 측면에 대한 설명은 여기서는 상세히 설명하 지 않기로 하겠다. 다만 대표적인 유전자조작 기술을 구사한 有用菌의 育種을 記述하므로서 理解를 돕는 것으로 한다.

1. Peptide物質生産菌株의 育種

Somatostatin이나 insulin生産菌의 育種에 서 이들 支配遺傳子를 体内에서 직접 分離하 는 것이 아니라 이들 펩타이드는 그 아미노 酸配列이 이미 究明되어 있기 때문에 이들 홀 몬의 아미노酸配列에 対応하는 遺傳子DNA를 化学合成하여 大腸菌벡터의 β-galactosidase 構造遺傳子옆에 結合시켜 大腸菌에 形質轉換 시켜서 生産케한 것이다.

Genetic社에서는 인간의 proinsulin을 같은

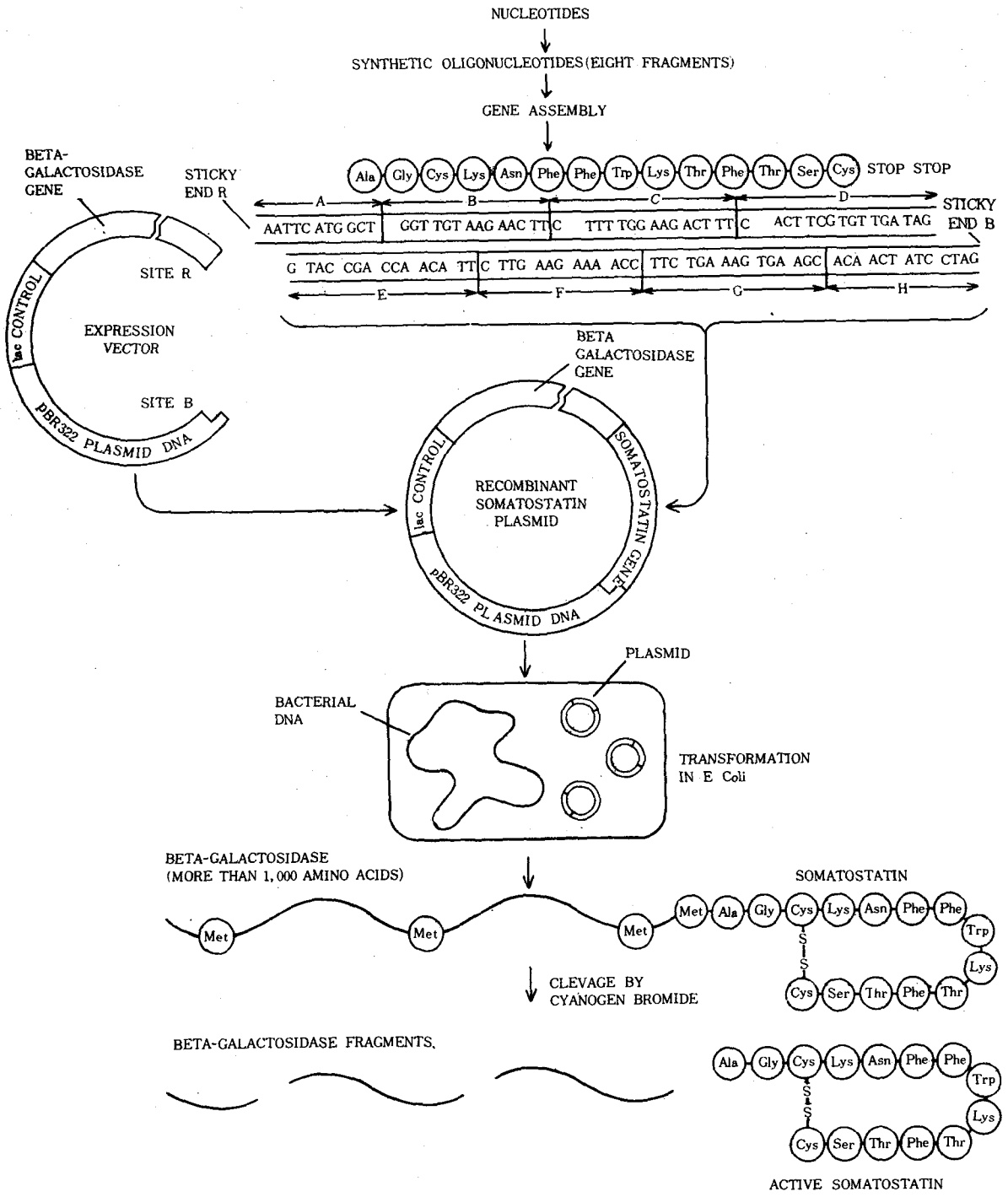


그림 2. SOMATOSTATIN 생산菌株의 育種 工程

方法으로 生合成시켜 fused protein로서 大腸菌에게 만들게 한후 酵素法에 의해 인슈린으로 만드는 方法도 가능하다고 한다. 또하나 다른 方法은 인슈린을 生成分비하는 細胞세포에서 인슈린 m-RNA를 분리하는 方法이 있다. 이렇게하면 그 m-RNA는 이미 인트론(introns)을 제거해버린 상태이기 때문에 그다음은 逆轉寫酵素(reverse transcriptase)를 써서 불필요한 遺傳情報를 내포하지 않는 c-DNA를 만들수 있고 이를 크론화 시킬수 있다. 일반적으로 化學的으로 合成한 遺伝子나 m-RNA로부터 逆轉寫酵素로 만든 c-DNA 遺伝子は 細菌의 細胞内에서 그 遺傳情報를 發現시키는데 필요한 promoter나 그의 制御하는 遺傳暗号(signal)을 갖고 있지 않기 때문에 細胞内에서 그 遺傳情報가 發現되지 않는다. 따라서 發現시키기 위해서는 벡터DNA내의 지정物質의 調節遺伝子支配下에 人工遺伝子를 삽입시켜줄 필요가 있는 것이다.

이러한 작업외의 문제는 菌株의 安全性이다. 細菌은 보통 자기 자신의 体内蛋白質이외의 낯선 外来蛋白質은 分解시켜 버린다. 그러므로 새로이 生合成되는 蛋白產物을 分解시키지 못하게 分解에 關係하는 酵素生産能이 欠損된 突然變異體를 宿主細胞로부터 選別해낼 필요가 있는 것이다.

선발된 宿主細胞는 필요하지도 않으면서도 새로이 生合成되는 蛋白質을 大量分泌 하고 培地内에 蓄積하면서도 生長할 수 있어야 하는 것이다. 이와같은 복잡한 과정을 극복하므로 새로운 蛋白質生産菌株가 育種되어 그중에서도 인슈린이나 生長ホルモン, 그리고 항바이러스 약제인 인터페론과 같은 치료용 蛋白質이 大量產될 단계에 도달하게 된 것이다. 이들 成果를 토대로 自然에서 生合成되는 그외의 酵素蛋白質이나 生理活性 蛋白物質을 生産하는 微生物을 育種해 낼 수 있는 可能性과 계획수립이 실용화단계에 있는 것이다.

2. 産業菌株의 効率化育種

抗生物質과 같은 二次代謝產物은 單一遺伝子에 의해서 生産되는 것이 아니라 수많은 遺伝子에 의해서 生産된 많은 酵素에 의해서 支配되고 生合成되는 것이다. 그러므로 二次代謝產物을 支配하는 여러 遺傳情報를 함께 他宿主細胞에 移植시킨다는 것은 現在技術로는 어렵다.

이런 경우 있을수 있는 方法은 目的產物을 生合成시키는 代謝經路를 원활히 하기 위한 遺伝子를 부여해주거나, 大謝를 促進시키는 새로운 酵素合成遺伝子를 삽입해주는 方法을 생각할 수 있다.

ICI에 의하여 遺伝子操作技術로 菌蛋白生産菌 *Methylophilus methylotrophus*를 改良 育種한 것이 바로 이러한 例가 된다.

메탄이나 메타놀등의 C1化合物을 유일炭素源으로 利用하는 微生物은 菌體蛋白生産菌으로서 注目을 받고 있다.

ICI의 上記菌은 一名 AS1株로 불리고 있는데 炭素源으로서 메타놀을 질소源으로서 암모니아를 利用한다.

암모니아를 資化하여 蛋白質을 生合成하는데 두개의 經路가 있어 그 에너지 消費率이 틀린다는점에 착안한 것이다. 즉, 암모니아를 資化하여 구루타민酸을 生合成하는데 하나는 구루타민合成酵素(GS)와 구루타민酸 synthase(GOGAT)에 의한 經路로서 GS 關係經路에 에너지(ATP) 消費量이 많다. 그러나 大腸菌과 같은 細菌에서는 암모니아를 資化하여 구루타민酸을 生成하는데에 다른酵素인 구루타민酸脫水素酵素(GDH)가 關係하므로 ATP를 要求하지 않고도 目的을 달성할 수 있다. 여기에 착안하여 AS1株의 에너지消費가 적은 菌株가 育種된 것이다. 본 育種方法을 보면 AS1株가 암모니아를 蛋白으로 資化시키지 못하게 GOGAT

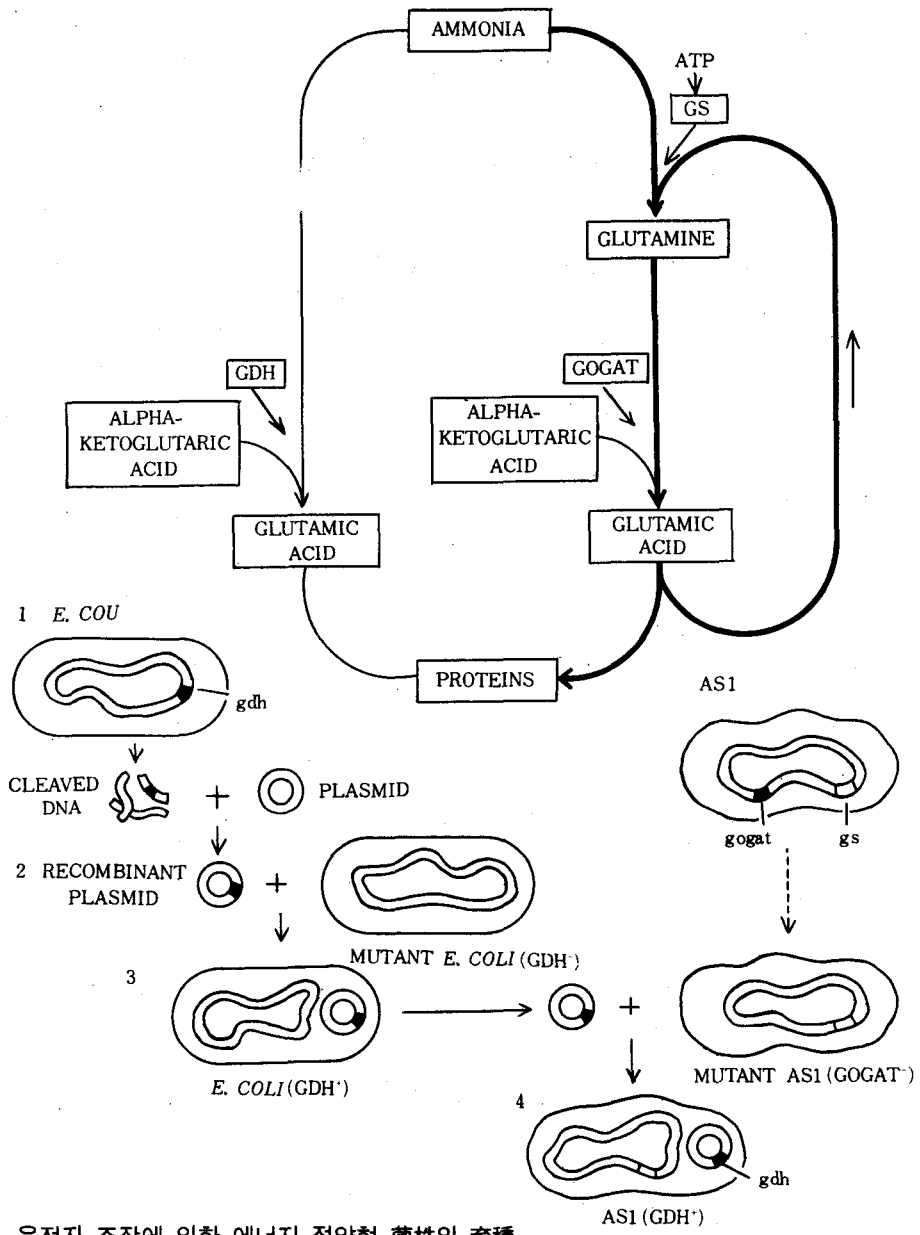


그림 3. 유전자 조작에 의한 에너지 절약형 菌株의 育種

GENETIC ENGINEERING substitutes an energy-conserving nitrogen pathway (*light color*) for the similar but energy-consuming pathway (*dark color*) in an industrial microorganism, a strain of *Methylophilus* called AS1

By means of recombinant-DNA techniques the gene encoding GDH isolated from *E. coli* and spliced into a plasmid(1). Mutant *E. coli* lacking GDH are transformed with the recombinant plasmid(2); transformed cells are recognized by their ability to obtain nitrogen from ammonia. Recombinant plasmids are reisolated and introduced into mutant AS1 cells lacking gene for GOGAT(3). Transformed AS1 cells (4) synthesize GDH and therefore grow more efficiently.

欠損 auxotroph를 만든다음, 大腸菌의 GDH 遺伝子를 遺伝子 操作技法으로 크론화시켜 AS1 auxotroph에 도입시키므로써 이菌은 GOG-AT대신에 GDH를 내는 菌으로 育種되었고 에너지效率이 좋은 菌으로서 蛋白質을 大量生産 할 수 있게 되었다.

3. Plasmid의 形質轉換에 의한 菌株 育種

形質轉換(transformation)은 抽出된 DNA를 이용한 遺伝子傳達 方法이다. Protoplast 融合이 細胞間 DNA傳達임에 비하여 plasmid DNA가 染色体와는 獨立되어 存在하는 것이 특징이다. Charkrabarty 일파는 宿主域이 넓은 plasmid RPI (分子量 38MD)을 써서 pseudomonas putida株의 形質轉換에 成功한바

있다. Plasmid는 染色体 DNA로서 環狀이고 細菌이나 酵母体内에서 自己增殖할 수 있고 때로는 特殊한 遺伝情報를 지니면서 한 細菌에서 다른 細菌으로 轉換되기도 한다. 宿主細胞가 破裂하므로 plasmid DNA가 밖으로 露出되는 수도 있고 이때 다른 細菌細胞내에 들어가므로써 形質轉換(transformation)이 일어나는 경우도 있다. 이러한 現象을 利用하여 菌株의 分子育種을 할수가 있는 것이다.

Pseudomonas屬 細菌은 土壤, 湖水, 海水에 넓게 서식하면서 여러종류의 有機化合物을 利用할 수 있고 특히 炭化水素를 資化할 수 있는 것이 많다. 그중 Pseudomonas putida는 octane(OCT) camphor(CAM) xylene(XYL) naphthalene(NAH) 등을 資化하는 酵素를 支配하는 plasmid중 어느 하나를 가지고 있음이 알려져 있다.

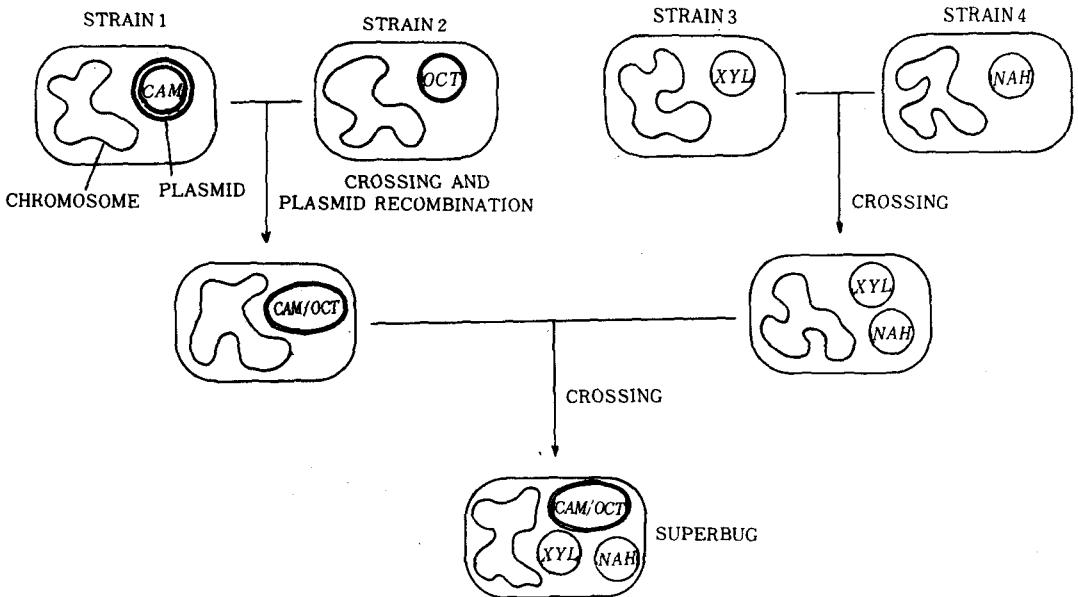


그림 4. 形質轉換에 의한 菌株育種

“SUPERBUG” that can metabolize the major hydrocarbons of petroleum is constructed by the manipulation of plasmids. The ability of four different strains of *Pseudomonas putida* to metabolize either the camphor (CAM), octane

(OCT), xylene (XYL) or naphthalene (NAH) family of hydrocarbons depends on individual plasmids. A strain that can degrade all four families is constructed successive crosses.

미국 일리노이 대학의 Chakrabarty 팀은 CAM, OCT, XYL, NAH의 plasmid를 각각 가진 *P. putida*의 4菌株를 차례로 接合시키므로서 4 plasmid를 形質 轉換시키는데 成功한 것이다. CAM plasmid와 OCT plasmid는 分離되어 存在하지 않고 接合후 hybrid plasmid를 形成하나 XYL plasmid와 NAH plasmid는 接合후에도 獨立된 상태로 存在한다. 이렇게하여 계속적인 接合으로 *P. putida*는 4종의 plasmid를 모두 지닌 소위 "superbug" 菌株로 形成되고 이 菌株는 炭化水素資化能이 훨씬 強해 지므로서 原油含有培地에서 生長이 촉진되었다고 한다. 이렇게 만들어진 菌은 燒油處理에 利用할 수 있는 것으로 주목을 끌었으며 微生物 特許를 부여하는데 미국에서는 하나의 轉期가

되기도 하였다.

일본의 Maruo 팀은 *Bacillus subtilis* 6160株에 外來의 α -아미라제 生産에 關係하는 制御遺 伝子에 6種類를 形質轉換시켜 원균의 약 1500 倍의 α -아미라제 生産力을 가진 菌株를 育種 하였다. 이들 6種類의 制御遺伝子는 α -아미 라제의 合成, 分泌過程에 각각 다른 機能을 가 진것으로 想像되고 있으며 또한 이들 遺伝子 作用이 協調하여 相束效果를 나타내므로서 높은 生産性을 유지하는 것으로 생각되고 있다.

이는 發酵工業에 있어 여러方法으로 生産性 이 높은 菌株를 선발하여 이들 각기 다른 遺 伝子를 phage에 의한 形質導入이나 形質轉換 으로 細胞내에 모음으로서 生産性이 높은 菌 株를 育種할 수 있음을 시사하는 것이다.

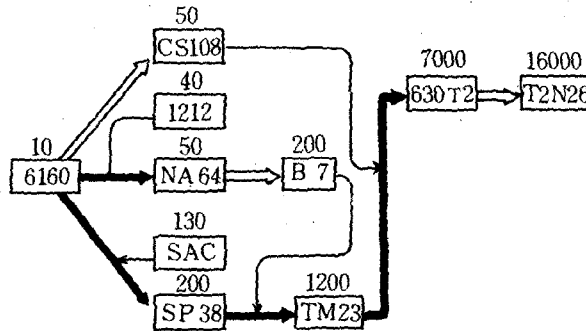


그림 5. α -Amylase 生産菌株의 育種經路

- 1) 검은 화살표: 形質轉換法
- 2) 흰색 화살표: NTG處理에 의한 突然變異
- 3) □ 표는 *Bacillus Subtilis*의 菌株名
- 4) 數字는 α -amylase力價(u/ml)

V. 微生物의 새로운 育種경향

1. 産業用 微生物의 宿主-벡터系의 開發과 育種

遺伝子操作에 의한 菌株의 育種은 오늘날 주로 大腸菌宿主와 그 벡터系를 利用하여 인간을 포함한 他種의 生理活性 케프타이드, 酵

素 그리고 바이러스抗原의 生産을 위한 遺伝子를 操作하므로서 行해지고 있으며 이미 그 성과가 일부 현실화되고 있다. 인플루엔자나 B型肝炎 바이러스抗原의 大腸菌宿主에서의 克隆化도 이 범주에 속하는 것인데 오늘날 開發對象이 되고있는 것은, 生理活性케프타이드의 경우 그 一次構造가 밝혀져있던가 生成되는 組織의 細胞培養이 可能하고 檢出法이 밝혀져있

는分野를 개발의 目標로 選定하고 있다. 케프타이드중 저분자량물질은 化學合成이 可能하기 때문에, 유전자조작에 의한 개발대상은 비교적 고분자의 케프타이드나 蛋白質이 될 것이다.

高等動物을 포함한 인간의 特殊生理活性物質을 微生物에 크론화시켜서 生産하는 技術도 重要하겠으나 醱酵工業에서는 微生物간의 遺伝子를 組換하여 遺伝子增幅으로 生産力을 向上시키는 育種方法도 主要하다. 그런 경우 微生物의 種間 또는 屬間的 遺伝子組換이 이루어지면 좋을 것이나 여기에도 種間的 障壁 (species barriers)이 있어 그리 쉽지는 않다.

즉 種間에도 酵素的(nuclease), DNA複製機構(replication) 遺写(transcription) 翻譯(translation) 등의 障壁이 가로놓여 있어 이를 극복해야 한다. 이들 문제를 일부 극복하여 오늘날 연구가 성공적으로 진행되고 있는 것이다. 즉 大腸菌起原의 penicillin acylase의 遺伝子를 pBR 322 등의 plasmid에 의하여 大腸菌宿主에서 크론화한후 遺伝子增幅法으로 生産량을 原株의 50배가량 向上하게끔 育種하고 있고, 異種微生物의 포도당異性化 酵素遺伝子를 pBR 322를 벡터로하여 大腸菌에 크론화시켜 성공한 예도 있다.

일반적으로는 種의 障壁은 상당히 높아 産業적으로 많이 쓰이는 Bacillus屬이나 Streptomyces屬 細菌의 遺伝子가 大腸菌細胞내에서 形質發現이 잘되지 않아 문제가 아직 남아 있고 오늘날 주로 많이 쓰이는 大腸菌宿主와 벡터系以外에 새로운 Bacillus宿主—벡터系, 放線菌宿主—벡터系 또는 酵母宿主—벡터系가 開發되어 微生物産業에 應用되어야 할 것이다.

현재 발효공업에 관련이 깊은 微生物의 宿主—벡터의 開發이 진행되고 있는 것으로서 Saccharomyces屬, Bacillus屬 및 Streptomyces屬의 一部種에 볼 수 있다. 이들은 모

두 醱酵工業에 쓰이는 중요한 菌들로서 大腸菌宿主에서 形質이 發現되지 않은 遺伝子の 크론화에 크게 이바지하게 될 可能性도 있는 것이다.

Cold Spring Harbor研究室의 F. Heffron에 의하면 transposon이라 불리는 遺伝因子내에 目標로하는 遺伝子를 導入시켜 크론화시키는 方法으로 突然變異를 일으키는 새로운 方法을 開發하고 있다. 즉 transposon의 兩側에 있는 insertion sequence에서 分離해낸 후 目標遺伝子를 붙여서 새로운 replicon에 이어, 形質發現할수 있는 位置에 이어준다는 것이다. Transposon은 嵌입실린耐性標識을 가지고 있어, genome上的 位置도 쉽게 認識할수 있고 chromosome DNA에도 붙일수 있다.

2. 條件付突然變異에 의한 育種

人工突然變異法으로 産業用菌株의 改良이 오늘날까지의 抗生物質, 酵素 그리고 아미노酸·核酸의 醱酵生産의 生産性を 높히는 원동력이 되어왔다. 이들 方法은 酵素活性이나 代謝調節機構에 대한 變異로서 環境條件에 의해 左右되는 性質의 것이 아니었다. 그러나 環境條件여하에 따라 phenotype가 變化하는 條件付突然變異를 應用한 育種에 대해서는 아직 개발의 여지가 있다. 條件付突然變異는 溫度등 어느 定해진 條件下에서는 生育하나 다른 條件에서는 生育하지 않는 變異株를 말한다. 溫度感受性變異株가 그 例로서 穀류타민酸醱酵에서 이 變異株를 應用한 것이 있다. 즉 비오틴要求性 穀류타민酸生産菌의 野生株에서 誘導한 溫度感受性變異株를 일정한 溫度條件下에서 培養시켜 일정농도가 될때까지 增殖시킨다. 다음에 이 變異株가 生育할수 없는 다른 溫度條件으로 培養溫度를 變化시켜주면 生育은 억제되고 따라서 生理的 性質이 變化하기 시작한다. 野生株는 biotin이 과잉供給되면 穀류타민酸生産이 不可能하나 이 溫度感受性變

異株에서는 biotin이 과잉含有되어도 굴루타민酸이 大量生産된다.

최근(1981년) Denmark의 Odense大學의 B. E. Uhlin팀이 발표한바에 의하면 目標遺傳子の copy數를 100倍 增加시키는 溫度感受性 plasmid(PKN402)와 β -Lactamase酵素의 收率을 400倍 높이는 溫度感受性 plasmid(PKN 410)의 두가지를 開發하였다고 한다.

VI. 맺는말

遺傳子操作에 의한 産業菌의 育種이라 해도 育種에 接近하는 길은 여러가지가 있다. 또한 무엇을 目的으로 生産할것이며 또 醱酵基質을 무엇으로 할것인가에 대해서도 方法은 달라진다. 특히, 오늘날 醱酵生産에 있어서의 原料

가되는 基質의 문제는 세계적으로 보아도 문제가 된다. 그러므로 醱酵工業에 있어 原料問題를 解決하기 위하여 amylase 혹은 cellulase의 遺傳子를 生理活性物質生産菌에 導入시켜 그 形質을 發現시킬수 있다면 醱酵工業에 획기적인 계기가 될것이며 나아가 오늘날의 에너지부족문제 해결에도 크게 이바지하게 될 것이다. 선진국에서 大腸菌宿主 및 벡터系로서 개발된 成長ホルモン·인슈린 및 인터페론과 같은 既開發物質을 生産하는 菌育種을 국내에서 시도하는 것보다 국내의 遺傳工學의 진흥은 좀더 根本的 問題를 파악하여 研究의 方向을 설정해야 할것이다. 왜냐하면 이미 개발된 物質들은 一段 量産化가 이루어지면 世界의 需要는 몇개社 만으로도 充足될것이며 後發研究는 이에 対応하여 競争하는 것은 어리석은 것이 될 것이다.

너와나의 주인정신 나라크고 나도 크다.