

# 遺傳工學 技術을 利用한 에타놀 醱酵微生物의 育種

李 尚 基

韓國科學技術院 遺傳工學센터  
先任研究員 · 理博

## 目 次

1. 緒 言
2. 에타놀醱酵微生物과 그 遺傳學的 研究
3. 澱粉質化菌의 育種
4. 纖維素分解菌의 育種
5. 高温性 에타놀醱酵菌의 育種
6. 問題點 및 結論
7. 參考文獻

## 1. 緒 言

遺傳工學의 本格的인 研究가 개시된지 10餘年, 그 동안 이 分野의 研究成果는 실로 눈부신 바 있어 이제 人類는 神의 영역으로만 치부되었던 生命現象의 操作을 임의로 할 수 있게 되었다. 주로 시험관 內에서의 DNA再組合 技術을 중심으로 한 遺傳子操作을 通하여 遺傳子를 한 生物體로부터 다른 生物體로 轉移시킴으로써 이 特定遺傳子가 새로운 生物體 內에서 複製, 維持됨에 따라 外部로부터 移入된 遺傳情報의 發現이 可能하게 된 것이다.

이와 같이 生物의 種의 障壁을 超越하는 遺傳子操作技術은 主로 微生物이 利用되고 있는 對象生物體에 遺傳的으로 전혀 새로운 技能을 부여하는 革新的인 技術로서 앞으로 微生物을 利用하는 生物工學産業 各 분야에 걸쳐 이제까지는 볼 수 없었던 획기적인 變化를 가져올 것으로 예상된다.

微生物醱酵에 依한 에타놀(ethanol)의 産業的 生産에 있어서도 例外는 아니어서 遺傳工學技術을 利用하여 에타놀 醱酵微生物의 性能을 飛躍的으로 改良시키려는 시도가 도처에서 활발히 推進되고 있다. 이러한 시도는 石油를 대체하기 위한 바이오에너지(bioenergy)의 開發이라는 觀點에서 에타놀 生産의 主要 原料物質인 澱유소나 전분질 등의 값싼 바이오매스(biomass)로부터 燃料用 에타놀을 生産하기 위한 研究에 주로 集點이 맞추어져 있지만 酒類用 에타놀의 生産에 있어서도 同一한 技術이 적용될 것으로 믿어진다.

本稿에서는 遺傳子操作을 통한 에타놀醱酵微生物의 改良에 대한 最近의 研究現況과 이러한 研究에 있어서 제기되고 있는 몇가지 問題點에 관하여 考察해 보고자 한다.

## 2. 에타놀醱酵微生物과 그 遺傳學的 研究

### 1. 酵母 (yeast)

現在 産業的으로 가장 많이 利用되고 있는 酵母 에타놀醱酵菌株에는 *Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvarum* (*carlsbergensis*), *Schizosaccharomyces pombe* 및 *Kluyveromyces* 등이 있다.

이들은 菌株에 따라 조금씩 차이는 있으나 多樣的인 形態의 糖質을 原料로 하여(表 1) 주로 pH 3.5~6.0과 28~35°C의 溫度條件下에서 效率的으로 에타놀을 生産한다. 一般的으로 酵母가 에타놀 醱酵菌株로서의 資格을 갖추려면 廉價의 原料物質을 使用하며, 使用한 基質당 에타놀 生産收率이 높고, 醱酵率이 좋으며, 高濃度의 에타놀이나 낮은 pH 조건에 대한 抵抗性이 크고 耐킬러(killer)性, 耐監性, 高溫性, 凝

表 1. 酵母의 種類와 利用 가능한 糖類

탄소수 및 기본형	당 류	기본단위	효 모		
			<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. uvarum</i> ( <i>carlsbergensis</i> )	<i>Kluyveromyces fragilis</i>
Six carbon sugars	glucose	glucose	+	+	+
	maltose	glucose	+	+	-
	maltotriose	glucose	+	+	-
	cellobiose	glucose	-	-	-
	trehalose	glucose	+/-	+/-	-
	galactose	galactose	+	+	+
	mannose	mannose	+	+	+
	lactose	glucose			
	galactose	galactose	-	-	+
	melibiose	glucose, galactose	-	+	
	fructose	fructose	+	+	+
	sorbose	sorbose	-	-	-
aldoses and ketoses	sucrose	glucose, fructose	+	+	+
	raffinose	glucose, fructose galactose	+/-	+	+/-
	rhamnose	6-deoxymannose	-	-	-
	deoxyribose	2-deoxyribose	+/-	+/-	+/-
Five carbon sugars	arabinose	arabinose	-	-	-
	xylose	xylose	-	-	-

集性 등이 있어야 하는데<sup>4)</sup> 따라서 酵母菌株의 育種은 주로 이러한 條件을 만족시키기 위한 方向으로 推進되고 있다.

酵母에 대한 遺傳學的인 研究를 이 微生物이 眞核細胞로서는 가장 簡單하여 취급이 比較的 容易하므로, 細胞分裂, 核分裂, 遺傳子 發現, DNA複製 및 修理, 各種 物質代謝, 膜 透過 메카니즘 등의 研究에 많은 成果가 있었다. 이를 基礎로 하여 酵母를 遺傳工學的으로 應用하려는 研究도 활발한 편이다.

酵母의 遺傳工學的 育種은 에타놀醱酵菌株의 代表格인 *S. cerevisiae*菌株를 대상으로 하여 遺傳子操作의 필수도구로 간주되는 宿主-백터系를 開發하려는 研究가 활발하여 그 동안 간염 표면항원<sup>3)-6)</sup> 인터페론<sup>7)</sup> 등 많은 種類의 異種遺傳子가 酵母내로 클로닝(cloning)되어 效果의으로 發現된 바 있다.

酵母에 使用되는 백터로서는 2 μ DNA라고 불리우는 酵母 核내에 存在하는 플라스미드(plasmid)의 一種과 酵母의 染色體上에 多數 存在하는 複製開始點(replication origin)을 포함하는 DNA斷片(ARS) 등을 플라스미드化시켜 利用하고 있다<sup>8)</sup> 한편 Li<sup>+</sup> Na<sup>+</sup> Rb<sup>+</sup> Cs<sup>+</sup> 등 알칼리 금속을 利用하여 DNA를 酵母細胞 內로 轉移시키는 形質轉換方法(KU 또는 KUR法)<sup>9)</sup> 이나 細胞壁分解酵素를 使用하여 酵母의 細胞壁를 제거한 다음 PEG(poly ethylene glycol)을 使用하여 이미 만들어진 原形質體(protoplast)에 DNA를 效率의으로 轉移시키는 細胞融合方法<sup>10)</sup> 등도 開發되어 있어 酵母의 遺傳工學的 改良을 容易하게 하고 있다.

2. 細菌(bacteria)

糖質을 醱酵하여 에타놀을 大量으로 生産할 수 있는 微生物로는 <表 2>에 表示한 바와 같이 酵母이외에도 여러가지가 存在하지만 그 중

表 2. 에타놀醱酵細菌의 種類

중온성 세균	포도당 1mol당 생성되는 에타놀의 양(mol)
<i>Clostridium sporogenes</i>	4.15
<i>Clostridium indolis</i> (pathogenic)	1.96
<i>Clostridium sphenoides</i>	1.8
<i>Clostridium sordelli</i> (pathogenic)	1.7
<i>Zymomonas mobilis</i> (syn. anaerobica)	1.9 (혐기성)
<i>Zymomonas mobilis</i> <i>ssp. pomaceae</i>	1.7
<i>Spirochaeta aurantia</i>	1.5 (0.8)
<i>Spirochaeta stenostrepia</i>	0.84 (1.46)
<i>Spirochaeta litoralis</i>	1.1 (1.4)
<i>Erwinia amylovora</i>	1.2
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1.1
<i>Streptococcus lactis</i>	1.0
<i>Sarcina ventriculi</i> (syn. <i>Zymosarcina</i> )	1.0

고온성 세균	T <sub>max</sub> (°C)	포도당 1mol당 생성되는 에타놀의 양(mol)
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i> (gen. nov.)	78	1.9
<i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i>	78	1.6
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	78	1.0 (55°C 이상에서 혐기성)
<i>Thermoanaerobium brockii</i>	78	0.95
<i>Clostridium thermosaccharolyticum</i> (syn. <i>tartarivorum</i> )		1.1
<i>Clostridium thermocellum</i> ( <i>themocellulaseum</i> )	68	1.0

에서도 熱帶地方에서 야자酒의 釀造에 흔히 利用되고 있는 *Zymomonas* 菌이 가장 많이 觀心을 끌고 있다. 그람(Gram) 음성세균의 一種인 *Zymomonas*는 特徵的인 代謝經路에 따라 포도당 1分子로부터 2分子의 에타놀을 生産하며 그 收率을 通常 理論值의 98% 이상이라는 높은 값을 나타낸다.<sup>11)</sup>

酵母와 比較하여 볼 때 *Zymomonas*는 에타놀 生産성이 월등히 높을 뿐만 아니라<sup>12)</sup> 原核細胞이기 때문에 遺傳工學的 操作이 比較的 簡便하리라는 長點이 있는 反面, 포도당, 과당 및 설탕등 高價의 糖質만을 原料로 利用할 수 있다는 決定的인 短點이 있다.<sup>13)</sup> 따라서 *Zymomonas* 菌株改良을 主로 이와 같은 基質制限性을 극복하려는 目的으로 遂行되고 있다. 그러나 *Zymomonas*에 對한 基礎的인 遺傳學研究가 아직 不充分하여 遺傳子操作을 통한 菌株改良에는 어려움이 많이 존재하고 있다.

바이오매스로부터 原料 에타놀을 生産하는데 있어 觀心을 끌고 있는 또하나의 細菌으로서 嫌氣性細菌인 *Clostridium*을 들 수 있다. 특히 *C. thermohydrosulfuricum*의 경우 60℃의 高温에서 1分子의 포도당으로부터 1.5分子 이상의 에타놀을 生産한다.<sup>14)</sup> 이와 같이 嫌氣性細菌을 利用하여 에타놀醱酵를 행할 때 섬유소를 分解시켜 資化할 수 있는 *C. thermocellum* 등의 菌株와 함께 混合培養을 시키면 섬유소로부터 直接 生産할 수 있다는 長點이 있다.

嫌氣性細菌을 遺傳工學의 方法으로 育種할 경우 好氣性細菌보다 取扱에 있어 어려운 點이 많고, 基礎 遺傳學研究의 결여로 아직 이에 대한 研究는 他分野에 比해 활발하게 進行되고 있지 않으나 最近 *Clostridium*을 利用한 原形質體 融合法<sup>16)</sup> 이나 遺傳子操作法<sup>15)</sup> 이 조금씩 시도 되고 있는 形편이다.

### 3. 澱粉資化菌의 育種

에타놀 醱酵時 가장 많이 利用되고 있는 原料物質 中の 하나가 澱粉으로서 이는 特히 酒精用 에타놀 製造時 반드시 使用되는 原料物質이다. 에타놀 醱酵에 흔히 利用되는 澱粉物質로는 옥수수, 밀 등의 穀類와 카사바(cassava), 사고(sago) 등의 熱帶性 作物 또는 고구마, 감자 등이 있다.

이러한 澱粉質로부터 에타놀을 生産하기 위해서는 酸이나  $\alpha$ -,  $\beta$ - 또는 글루코아밀레이즈(glucoamylase) 등 澱粉分解酵素處理를 통하여 澱粉質을 포도당 形態로 바꾸어 주어야 하는데 糖의 轉換收率이나 기타 經濟的인 測面에서 工業的으로는 酸處理法보다는 酵素處理法을 利用하는 것이 바람직 하다.<sup>16)</sup> (그림 1).

現在 에타놀 醱酵에 가장 많이 利用되고 있는 酵母 *S. cerevisiae*는 澱粉分解酵素를 스스로 生産하지 못하므로 이들 酵素를 生産하는 微生物과의 混合培養이 필요하다. 그러나 이 경우 效率이 그다지 높지 않고 培養方法이 번거로우므로 遺傳子操作을 통하여 *S. cerevisiae*에 澱粉分解酵素의 遺傳子를 導入시킴으로써 이 菌株가 이들 酵素를 分泌하여 澱粉質로부터 直接醱酵를 통해 에타놀을 生産할 수 있도록 하는 것이 有利하다.

酵母에 導入하려는 아밀레이즈(amylase) 유전자는 清酒生産을 目的으로 할 경우 주로 곰팡이인 *Aspergillus oryzae*의 分泌아밀레이즈群이고 맥주용으로는 大麥의 아밀레이즈遺傳子가 主對象이 된다. 또한 無蒸餾穀類粉을 糖化시키기 위해서는 細菌 由來의 아밀레이즈가 有效함이 밝혀져 이 유전자를 도입시키려는 研究도 進行 中이다.<sup>17)</sup> 그러나 이와 같이 아밀레이즈 遺傳子를 供與하는 生物體가 遺傳子收容體

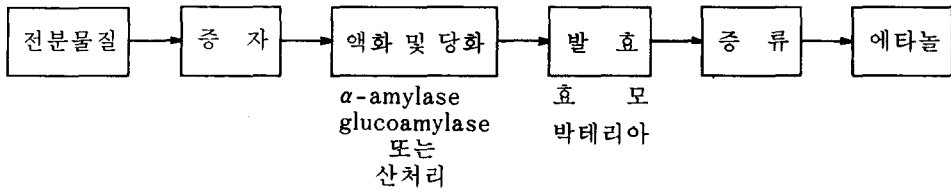


그림 1. 전분질로부터의 에타놀의 생산

인 *S. cerevisiae*와 分類學的으로 거리가 멀어 이들 外來遺傳子가 效果的으로 收容體內에서 發現되기 위해서는 여러가지 制約이 따르게 되므로 是近 이 事實에 着眼하여 美國, 日本 등에서는 *S. cerevisiae*와 近緣度가 높으면서 무증자 당화에 가장 유효한 효소인 글루코아밀레이즈를 생산할 수 있는 酵母인 *S. diastaticus*로부터 이 酵素의 遺傳子를 추출하여 *S. cerevisiae*에 클로닝함으로써 澱粉으로부터 直接 에타놀을 生産하려는 研究가 활발하다.<sup>17)-19)</sup> 이러한 努力의 一環으로 日本에서는 麥酒에 남아 있는 糖텍스트린 (dextrin)을 分解하는 酵素를 生産할 수 있는 *S. cerevisiae*의 育種에 成功하였다. 이것은 글루코아밀레이즈 遺傳子를 가진 플라스미드를 이 酵母에 도입시켜 糖을 直接 分解할 수 있도록 한 것이다. 따라서 糖의 醱酵率을 通常 88%에서 92-93%로 올림으로써 殘糖濃度가 낮은 다이어트麥酒의 時代가 열리게 되었다.<sup>20)</sup>

한편 *Zymomonas* 菌株에 아밀레이즈 遺傳子를 클로닝하려는 시도도 國內外에서 활발히 추진中에 있다. 前記한 대로 포도당을 原料로 할 때 *Zymomonas*의 에타놀 生産性이 酵母보다 월등히 優秀하므로 *Zymomonas*가 澱粉質을 直接 利用할 수만 있다면 工程開發面에서 여러가지 有利한 點이 많게 된다. 그러나 이 微生物에 대한 基礎遺傳學的 研究가 充分하지 못하고 특히 *Zymomonas*에 使用할 수 있는 有用한 벡터나 宿主細胞가 아직 開發되어 있지

않아 現在의 研究水準은 주로 벡터 開發이나 形質轉換法의 開發에 머물러 있는 狀態이지만 最近의 研究速度로 미루어 멀지 않아 좋은 結果가 얻어질 것으로 믿어 진다.

#### 4. 纖維素分解菌의 育種

代贖에너지로 利用하기 위한 工業用 에타놀 生産에 있어 原料物質로 가장 유망한 것은 纖維素物質이라 할 수 있다. 地球上에서 年間 生産되는 바이오매스의 總量은  $1.8 \times 10^{11}$  톤인데 이 중 約 40%가 纖維素이다.<sup>21)</sup> 이것을 에너지로 換算하면 全世界에서 필요한 에너지의 量을 上廻할 수 있는 막대한 量이다. 그러나 現在 人類가 纖維素資源을 에너지로 利用하는 것은 直接燃焼를 통한 극히 一部에 지나지 않고 大部分의 纖維素는 利用되지 않은 狀態로 放置되고 있는 實情이다. 그 理由는 纖維素의 構成成分이 매우 複雜하여 微生物이 쉽게 利用할 수 있는 포도당의 形態로 轉換시키는 것이 쉽지 않기 때문이다. 纖維素를 構成하고 있는 成分으로는 셀룰로오스 (cellulose), 헤미셀룰로오스 (hemicellulose) 및 리그닌 (lignin)이 있는데 이 중에서 특히 셀룰로오스 成分이 에타놀의 生産과 관련이 깊다. 天然셀룰로오스는 結晶型 (crystalline)과 非結晶型 (amorphous) 成分으로 構成된 不溶性 基質로서 이를 포도당으로 糖化시키기 위해서는 서로 役割이 다른 4개 이상의 酵素로 구성된 酵素複合體가 관여

하고 있다(그림 2).

셀룰로오스의 효소분해는 기질 특이적이고, 상온상압에서 반응이 진행되며 생성된 당의 2차 분해가 일어나지 않는다는 장점이 있지만 분해율이 낮고 반응속도가 느리다는 단점이 있다.<sup>23)</sup> 따라서 당화율과 속도를 증가시키기 위해서 셀룰로오스와 밀접하게 결합되어 있는 리그닌 성분을 제거하고 셀룰로오스의 결정형 구조를 파괴시킬 수 있는 물리, 화학 또는 생물학적인 전처리 과정을 거쳐야 한다. 이러한 방법에 의해 포도당으로 전환된纖維素資原是澱粉質의 경우와 마찬가지로 微生物을 利用하여 에타놀로 전환될 수 있다.

纖維素를 에타놀 醱酵의 原料物質로 使用하기 위해서는 셀룰로오스 분해효소인 셀룰레이즈(cellulase)를 생산하는菌株의 育種을 우선적으로 行하여야 하며 이를 研究結果를 토대로 하여 酵母나 *Zymomonas* 등에 셀룰레이즈 遺傳子를 클로닝시킴으로써 纖維素를 直接 에타놀로 醱酵시킬 수 있는 菌株의 開發이 可能해지는 것이다.

셀룰레이즈는 가장 代表的인 生産菌株인 *Trichoderma viridae* 외에도 <表 3>에 표시한 바와 같이 細菌, 放絲狀菌, 곰팡이 등으로부터 多樣하게 生産되고 있으며 이들 菌株의 酵素生

産能을 遺傳子操作法에 依해 增強시키려는 研究가 着實히 進行되고 있다.<sup>23)</sup> 그러나 이러한 研究目標가 제대로 達成되려면 셀룰레이즈 生産菌의 遺傳子操作을 可能케 하는 숙주-벡터系의 개발이 필요하게 되는데 셀룰레이즈 生産菌의 細胞内에서 自律的으로 複製할 수 있는 플라스미드의 發見과 그의 改良, 이 플라스미드를 宿主細胞内로 傳達시킬 수 있는 形質轉換條件의 確立 등이 아직 不充分하여 이러한 研究가 完全히 成功하기까지는 상당한 時間이 필요할 것으로 사료된다.

酵母를 利用하여 纖維質로부터 直接 에타놀을 生産하기 위해서 酵母의 一種인 *T. Viridae*로부터 셀룰레이즈 遺傳子를 分離하여 *S. cerevisiae*에 移入시켜 셀룰로오스 資化能力을 부여할 경우 고려해야 할 것은 셀룰로오스가 細胞内로 투과될 수 없는 高分子物質이므로 酵母内에서 生産된 셀룰레이즈를 體外로 分비시켜야 한다는 점이다. 그러나 菌體外酵素의 分비機構 또한 現在로서 充分히 解明되어 있지 않으므로 問題解決에 상당한 難航이 豫想된다.

한편 *Clostridium*을 利用하여 纖維素로부터 에타놀을 生産해 보려는 시도도 활발히 이루어지고 있는데 이러한 嫌氣性細菌에 依한 에타놀 醱酵의 特徵은 이 菌이 60°C 부근의 高温에

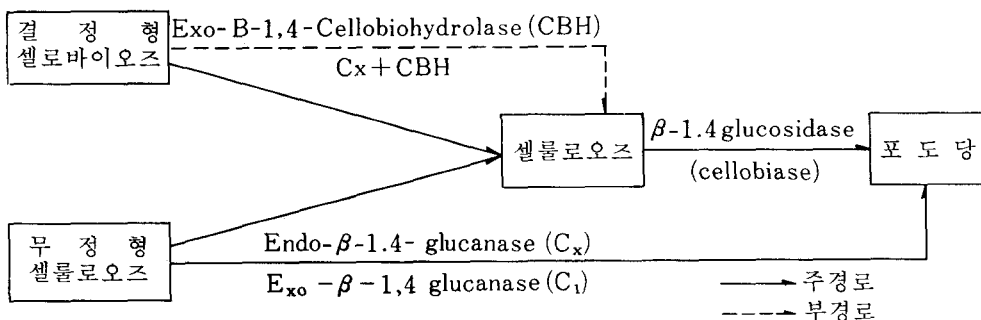


그림 2. 섬유소의 효소분해과정

表 3. 셀룰레이즈 생산균주

세균	곰팡이(호기성)
<i>Cellvibrio fulvus-aerobe, mesophile</i>	<i>Aspergillus niger-mesophile Commercial</i>
<i>Cellvibrio gilvus-aerobe, mesophile</i>	<i>Trametes sanguinea-mesophile</i>
<i>Cellvibrio vulgaris-aerobe, mesophile</i>	<i>Poria-mesophile</i>
<i>Callulomonas-aerobe, mesophile</i>	<i>Myrothecium verrucdria QM 460-mesophile</i>
<i>Pseudomonas flusrescens-aerobe, mesophile</i>	<i>Pestalotiopsis westerdijkii QM p81-mesophile</i>
<i>Ruminococcus-anaerobe, Rumeck en</i>	<i>Penicillium iriensis QM 9624-mesophile</i>
<i>Clostridium thermocellulaseum-anaerobe, thermophile</i>	<i>Penicillium funiculosum-mesophile</i>
방사상균(호기성)	<i>Penicillium vaiabile-mesophile</i>
<i>Streptomyces QMB814-mesophile</i>	<i>Polyporus versicolor-mesophile phije</i>
<i>Thermoactinomicete-thermophile</i>	<i>Polyporus tulipifererae-mesophile (Irpexlacteus)</i>
<i>Thermomonospora curvata-thermophile</i>	<i>Fusarium solani-mesophile</i>
<i>Thermonoepora fusca-thermophile</i>	<i>Trichoderma viride-mesophily</i>
	<i>Trichoderma lignorum-mesophile</i>
	<i>Trichoderma koningii-mesophile</i>
	<i>Sporotrichum pulverulentum QM 9145-thermophile (Chrysosporium, Phanerochaete lignorum, chrysosporium)</i>
	<i>Sporotrichum pruinosum QM 826-thermophile (Chrysosporium pruinosum QM)</i>
	<i>Sporotrichum dimorphosporum QM 806-thermophile thermophile</i>
	<i>Sporotrichum thermopilum QM 9382-thermophile</i>
	<i>Chaetomium thermophitum QM 9381-thermophile</i>
	<i>Thermoascus aurantiacus QM 9383-thermophile</i>

서도 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 分解하여 資化할 수 있는 能力을 갖추었다는 點이다.<sup>20)</sup> 또한 *Zymomonas*에 셀룰레이즈 遺傳子를 클로닝하여 이 菌株의 우수한 에타놀生産力을 함께 利用해 보려는 研究도 추진 중인데<sup>23)</sup> 纖維素 分解에 關여하는 酵素가 單一酵素가 아닌 세가지 酵素로 이루어져 있으므로 이들 酵素의 遺傳子를 同時에 클로닝하여 效率的으로 發現시키기까지는 역시 先決해야할 어려운 問題가 山積해 있다.

## 5. 高温性 에타놀醱酵菌의 育種

酵母나 *Zymomonas*를 利用하여 에타놀醱酵를 試行할 경우 이들 菌株의 增殖에 適當한 温

度는 一般的으로 30℃ 前後로서 이 보다 溫度가 몇도만 올라가도 醱酵速度는 급격히 低下하게 된다. 그러나 醱酵溫度를 올릴 수만 있다면 다음과 같은 몇가지 點에서 意味가 있게 된다. 첫째 微生物에 依한 醱酵現象은 發熱을 同伴하므로 醱酵槽의 容積이 大規模가 되어야 할 뿐만 아니라 内部溫度를 適當한 溫度로 유지하기 위해서 냉각시스템도 大規模로 설치해야 하므로 시설비에 대한 投資도 무시할 수 없게 된다. 우리나라와 같은 氣候條件에서는 냉각에 필요한 경비를 最少로 줄이기 위해서 醱酵溫度를 40~45℃ 까지 올리는 것이 바람직스럽다. 둘째, 醱酵에 依해 製造된 에타놀로부터 無水알코올을 얻기 위해서는 通常 蒸溜過程이 필요하게 되는데 만일 醱酵溫度를 에타놀의 沸

點인 60~70°C 부근까지 대폭 올릴 수만 있다면 醱酵가 進行되는 동안 連續적으로 알코올을 蒸溜할 수 있는 새로운 方式의 工程이 可能해 진다.<sup>24)</sup> 이에 따라 培地中에 存在하는 에타놀의 濃度を 낮게 유지하면서 醱酵를 進行할 수 있게 되고 醱酵微生物이 에타놀에 依한 阻害를 받지 않게 됨으로써 醱酵速度를 增加시킬 수 있게 된다. 이와 같이 高温性 에타놀 醱酵菌株을 使用할 경우 經濟的인 測面에서 여러가지 有利한 點이 많으므로 高温에서도 醱酵를 效率적으로 行할 수 있는 微生物의 育種이 重要한 課題가 되고 있다. 醱酵微生物의 最適溫度를 높이기 위해서는 細胞內의 단백질이나 細胞膜을 構成하고 있는 脂質性분이 高温에 適應할 수 있어야 하므로 常識적으로 생각할 때 目標達成이 그다지 쉬운 편은 아니다. 實際로 많은 微生物에 있어서 突然變異를 통해 生育溫度가 낮아지는 경우는 드물지 않지만 生育溫도의 限界點을 높이는 경우의 成功例는 거의 報告된 바가 없다. 다만 連續醱酵法을 利用하여 溫度를 서서히 올려주면서 42~43°C의 高温에 適應할 수 있는 *Zymomonas*의 自發的 突然變異株를 探索하고자 하는 시도가 報告되어 있는 정도이다.<sup>25)</sup> 그러나 最近 *Acetobacter aceti*에 속하는 高温性 초산균을 利用하여 遺傳工學的 方法으로 最適溫度를 30°C에서 35~37°C까지 올릴 수 있음이 報告되어<sup>2)</sup> 이와 같은 研究가 반드시 不可能한 것은 아니라는 點을 시사해 주고 있다. 따라서 醱酵溫度가 높은 酵母菌株을 熱帶地方에서 分離하여 기존 酵母와의 雜種인 新種酵母를 遺傳子操作 方法이나 細胞融合方法을 통해 製造하거나 溫泉이나 火山地域에서 分離된 高温性 微生物로부터 高温抵抗性 遺傳子를 推出하여 기존의 에타놀 醱酵菌에 클로닝하는 研究도 생각해 볼 수 있을 것이다. 그러나 醱酵溫度를 60~70°C

까지 올리려면 酵母나 中溫性 細菌 이외의 高温性 醱酵微生物을 탐색하여 宿主로 利用하는 것이 더욱 實現性이 클 것으로 믿어 진다.

## 6. 問題點 및 結論

遺傳工學的인 方法으로 우리가 원하는 遺傳子를 한 種類의 生物體에서 다른 種類의 細胞로 넣어 줄 때 이제까지 本文에서 서술한 問題點 이외에도 技術적으로 여러가지 난관이 도사리고 있다. 즉 遺傳子の 클로닝이 成功하더라도 새로이 導入된 遺傳子가 새로운 宿主細胞에서 轉寫된 翻譯을 통해 效率적으로 發現될 수 있는가가 問題이다. mRNA가 제대로 生成되어 遺傳子產物이 生産되기 위해서는 프로모터(promoter), 개시코돈(initiation codon), 리더配列(leader sequeuce) 또는 信號配列(signal sequence) 등이 要求되며, 이들이 모두 벡터 DNA 위에 구비되어 있어 이 벡터가 單獨으로 複製되거나 기타의 技能을 발휘할 수 있어야 한다. 또한 많은 種類의 細胞 속에는 여러가지 制限酵素가 存在하여 外部에서 들어오는 異質DNA를 分解시켜 버릴 수가 있으므로 이러한 能力을 갖지 않은 宿主細胞를 選擇할 필요가 있으며 多幸히 이러한 난관을 극복하고 遺傳子가 제 기능을 발휘하여 宿主細胞內에서 필요한 단백질을 充分히 生産해 냈더라도 宿主細胞內에는 여러가지 단백질분해효소(protease)가 存在하여 어렵게 만들어진 단백질을 分解시켜 버리는 경우도 생길 수 있다. 이러한 모든 問題點을 고려할 때 바이오매스로부터 에타놀의 醱酵生産에 있어서 遺傳子操作에 依한 微生物의 育種이 기대한 만큼의 成果를 거둘 수 있을 지는 아직 未知數라 할 수 있다. 그러나 酵母의 경우 宿主-벡터系의 開發, 細胞融合法의 開發 등 遺傳工學의 技術的 基盤



이 어느 정도 갖추어져 있어 가까운 장래에 어느 정도 意味있는 成果를 거둘 수 있으리라는 期待는 해봄 직 하다. 酵母 以外의 微生物에 依한 에타놀 醱酵의 새로운 可能性에 對해서는 더욱 進歩된 遺傳工學技術이 필요하겠지만 우선은 自然界로부터 未知의 微生物을 分離해 내는 探索(screening) 技術을 통해 有用한 菌株을 確保하고 遺傳子操作方法을 動員하여 微生物의 性能을 하나씩 改良해 나가야 할 것으로 생각된다.

## 7. 參考文獻

- 1) Kosaric, N., Wiczorek, A., Cosentino, G. P., Magee R. J. and Prenosil, J. E., in *Biotechnology* (H. Dellweg, ed.) Vol. 3, p. 257, Verlag Chemie, Weinheim (1983)
- 2) 別府輝彦. 바이오마스에 みる燃料, 化學原料의 開發技術資料集成, p. 297, 富士テクノシステム社(1984)
- 3) Hitzeman, R. A., Hagie, F. E., Levine, H. L., Goedel, D. V., Ammerer, G. and Hall B. D. *Nature* 293 : 712(1981).
- 4) Hitzeman, R. A., Chen, C. Y., Hagie, F. E., Patzer, E. J., Liu, C. C., Estell, D. A., Miller J. V., Yaffe, A., Kleid, D. G., Levinson, A. D., and Oppermann, H. *Nucleic Acids Res.* 11 : 7791(1983).
- 5) Valenzuela, P., Medina, A., Rutter, W. J., Ammerer, G. and Hall B. D. *Nature* 298 : 347(1982).
- 6) Kim, K. T., Song, K. B., Choi, Y. C., Rhee, S. K., and Han M. H. *Korean Biochem. J.* 2 : 122 (1985).
- 7) Hitzeman, R. A., Hagie, F. E., Levine, H. L., and Goedel, D. V. *Science* 219 : 620 (1980).
- 8) Beckerich, J. M., Fournier, P., Gaillardin, G., Heslot, H., Rochet, M., and Treton, B. in *Genetics and Breeding of Industrial Microorganisms*. (C. Ball, ed.) p. 115 CRC Press, Inc. (1984).
- 9) Fukuda, Y., Yamaguchi, S., Hashimoto, H., Shimosaka, M. and Kimura, A. *Agric. Biol. Chem.* 48 : 2877(1984).
- 10) Hinnen, A., Hicks, J. B. and Fink, G. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75 : 1929 (1978).
- 11) Swings, J., and Deley., J. *Bacteriol. Rev.* 41 : 1 (1977).
- 12) Rogers, P. L., Lee, K. J., and Tribe, D. E. *Process Biochem* 15 : 7 (1980).
- 13) Wiegel, J. *Experientia* 36 : 1434(1980).
- 14) Allcock, E. R., Reid, S. J., Jones, D. T., and Woods, D. R. *Appl. Environ. Microbiol.* 43 : 719(1982).
- 15) Lin, Y. L., and Blaschek, H. P. *Appl. Environ. Microbiol.* 48 : 737 (1984).
- 16) Reilly, P. J. in *Starch Conversion Technology* (G. M. A. Van Beynum and J. A. Roels, ed.) p. 101 Marcel Dekker, Inc. (1985).
- 17) Yamashita, I., and Fukui, S. *Agric. Biol. Chem.* 48 : 137 (1984).
- 18) Suzuki, K., Yamashita, I., and Fukui, S. *J. Bacteriol.* 155 : 747(1983).
- 19) De Menezes, T. J. B. *Process Biochem.* 13 : 24 (1978).
- 20) 日本經濟新聞記事(1986).
- 21) Whitaker, R. H. *Communities and Ecosystem.* Macimillan, N. Y. (1970).
- 22) 李尚基. 電氣學會誌 33 : 691(1984).

- 
- 23) Wu, R. Proceedings of Symposium on Genetic Engineering and Biotechnology (M. H. Han ed.) p. 101 KAIST (1983).
- 24) Wilke, C. R., and Mitra, G. Biotechnol, Bioeng, Symp. 5 : 253 (1975).
- 25) Rhee, S. K. Korean J. Appl, Microbiol, Bioeng, 12 : 27 (1984).