

## 효소자원의 이용과 방선균효소

오 태 광

한국과학기술원 생명공학연구소 미생물 효소 연구실

효소는 효모에 의한 알콜로 발효되는 현상에서 그 존재를 확인하는 최초의 발견이 있기 이전에 이미 송아지의 위 존재하는 rennet을 추출하여 상업적으로 사용하였다. 효소(Enzyme)란 용어는 효모(Yeast)란 의미의 "in yeast"란 희랍어에서 기인되는데, 효소가 상업적 가치가 크게 부여된 적극적인 의미는 1894년 일본인 Takamine가 고지배양법에 의한 곰팡이 Amylase를 생산하면서 이루어졌다. 효소공업의 발전사를 구분하여 조사해 보면 표 1에 표시한바와 같이 4단계로 구분할 수 있는데, 제1세대는 1908년 Boidin과 Effront가 *Bacillus subtilis*를 액체배양하여  $\alpha$ -amylase를 생산하면서 시작되어 1950년대에 Submerged fermentation에 의해서 대량생산이 가능하게 됨에 따라 효소산업이 생물공업의 중요분야로 대두하면서 이루어졌다. 이때에는 주로, 식품에 효소응용에 대해서 주력하였고, 이용된 효소는 전분당화효소, 단백질용유효소등이 주축이다. 효소의 탐색자원도 곰팡이, 고등동물물을 위주로한 천연효소를 대상으로 고역가위주를 목표로 연구하였고, 이용기술도 천연기질과 자연반응을 이용한 회분식 효소반응 기술을 응용하였다. 효소공학의 발전의 제2세대는 1953년 고정화효소기술이 성공하고, 1969년 Glucose isomerase의 고정화효소 반응기가 High Fructose Syrup을 생산하면서 시작되었는데, 이때의 산업적응용은 식품을 포함한 정밀화학제품의 생산으로 전환하게 되었다. 효소생산기술도 제1세대의 심부배양법에서 유가식배양법(Fed Batch)으로 발전하였고, 효소의 탐색자원도 주로, 배양기간이 짧은 세균을 많이 이용하게 되었다. 효소이용기술은 자연기질이나 유기합성기질을 이용한 연속식 효소반응기술을 응용하고, 제2세대에 대폭적으로 개발된 유전공학기술을 이용하여 고역가의 효소연구보담은 특이성이 있는 효소를 탐색하

여 유전공학기법으로 대량생산하는 체제를 적용하게 되었다.

제3세대의 효소기술의 발달은 1977년에 비수계 효소반응이 융합성이 성공하고 1988년 비수계 효소반응기의 실용화가 이루어지면서 활성화되는데, 주로, 사용하는 효소생산기술을 재조합 균주의 발효기술을 이용하고 효소자원의 탐색도 동물뿐만 아니라 곰팡이, 세균, 방선균등 다양하게 구성하여 실용화하고 효소의 역가의 많고 적음이 효소선정의 판단기준이 아니고, 효소가 갖고 있는 신반응성, 신특성, 신이용성을 가지면서 고효율성 특성을 갖는 신기능효소에 관한 탐색이 위주되고 이렇게 찾은 효소는 단백질 재조합기술에 의한 대량생산 체제를 갖추어 생산해 나가는 전략을 택하게 되었다. 사용기질도 천연 또는 유기합성 기질을 사용하여 고부가치의 자원에너지 절약형의 미래 첨단산업을 주도하게 된다. 제4세대는 현재가 아닌 2000년대부터 시작되리라고 예상하지만, 생체모방기술(Biomimics)의 한 분야로 1982년도에 최초의 인공효소가 합성되었고, Xenosyme, Abzyme, 및 Chemozyme등이 등장하기 시작하게 됨에 따라서 이분야에 대한 가능성이 점차 확대되게 되었다. 또한, 산업적 활용도 특정분야를 벗어난 전분야에 대해서 확대되어 이용되고 생체모방의 영역까지 확대되어 적용되리라고 본다. 현재는 효소 발달기로의 분류는 제3세대기로 분류되고 효소공업이 초기단계의 식품공업으로의 응용에서 정밀화학제품, 및 특수응용까지 가능한 공업용, 치료 및 진단에 응용되는 의료용, 환경보호를 목적으로 하는 난분해물질 제거하는 환경용, 석유산업대체하는 화학용 및 제한효소, 신의료기술, 범죄수사기술에 응용되는 특수용효소까지 사용범위가 다양해졌다. 방선균의 효소는 전환당인 Fructose를 생산하기 위한 Glucose isomerase를 생산하는 *Streptomyces nigificans*의

표 1. 근대 효소공업기술의 발전흐름

구 분	제1세대	제2세대	제3세대	제4세대
연 대	-1960	1960-1985	1985-2000	2000-
중요전환기술	심부배양법	효소의 고정화	비수계 효소반응	인공효소
효소생산기술	심부배양	유가식배양	재조합 균주발효	효소화학합성
효소자원	동물, 곰팡이	세 균	다양화	다양화
반응기술	회분식	연속식	비수계	특이반응기
사용기질	천연	천연,반유기합성	천연, 유기합성	유기합성
산업적응용	식품	정밀화학품	특수화학품	전분야

이용에서 점차, 다양한 효소자원의 탐색원으로 사용되고 있다. 본 Chapter에서는 효소의 전반적인 탐색방법, 현재의 산업의 이용에 대해서 예를 들고 방선균이 그런분야의 효소를 생산, 분비, 또는 이용되는 경우를 설명해 나가겠다.

### 효소자원으로서의 방선균

방선균에서 유래된 효소중 산업적으로 가장 많이 사용되어 왔던 것으로는 High fructose corn syruo을 생산하는데 사용되는 Glucose isomerase를 생산하는 것과 진단용 시약중 혈중 Cholesterol의 함량을 측정하는데 사용되는 Cholesterol oxidase을 예로 들 수 있고, 현대의 주변기술의 발달로 말미암아 생체가 생산하는 극소량의 물질을 극대화하는 기술인 유전공학기술, 단백질공학기술, 및 생물공학기술의 개가로 과거에는 그 역가의 미미함 때문에 학술적으로나 또는 이론적으로 가능했던 기술을 실용화로 가능하게 할 수 있게 되었다. 화학공업의 대체로 방선균효소로 생산하는 공정의 개발은 Acrylamide의 생산을 예로 들 수 있는데, *Rhodococcus rhodochrous*가 생산하는 nitrilase을 이용해서 산업적인 Scale로 Acrylamide를 생산하고 있다. 방선균의 산업적활용은 방선균의 이차대사산물을 이용하여 항생, 항균, 및 항암제의 신규탐색에 주력을 해왔고 이 분야에 대해서는 많은 성과가 있었기 때문에 방선균하면 항생제가 연상될 정도로 방선균을 대하는 관심이 한정되어 왔다. 산업의 발전방향이 무공해 저에너지 고효율의 자원 절약형 산업이 미래지향산업이라 규정되면서, 효소산업이야말로 이분야를 만족시킬 수 있는 한분야로 점 할 수 있고, 방선균이야말로 이런 점을 충족시킬 수 있는 중요자원이기 때문에 방선균에 대한 우리의 시각도 재확립되어야 된다고 생각한다. 그러면, 왜 방선균 유래 효소가 효소자원으로 중요한 지에 대해서 고려해 보면 아래와 같이 정리 할 수 있게 된다.

**방선균은 다양한 대사물질을 생산한다 :** 즉, 방선균은 다양한 대사물질인 항생제, 저해제, 촉진제, 노화방지제 및 항암제 등의 생리활성물질을 생산하는데, 이런 생리활성물질을 생산하려면 여기에 작용하는 다양한 효소자원이 존재할 것을 예상할 수 있고, 이런 효소자원은 산업적으로 중요한 의미를 갖는다.

**방선균자체가 대단히 풍부하다 :** 방선균은 토양, 폐수 등 자원에 풍부하게 분포하고 있어서 효소탐색자원으로 풍부할 뿐만 아니라, 선택적 분리에 대한 연구가 상당한 수준으로 진척되어 자원으로 활용하기 쉽고, 같은 방선균내에도 변종이 많은 것을 특징으로하기 때문에 방선균 자체가 풍부하고 쉽게 이용할 수 있다.

**방선균 대사물질의 구조특이성이 있다 :** 방선균이 생산하는 생리활성물질의 구조특이성이 생리적 역가의 유무를 결정하는 경우가 많은데 이는 구조 특이성에 관여하는 효소가 풍부하게 존재함을 알 수 있는데 현대, 화학공업은 구조특이성

이 있는 화학합성에 대한 문제해결에 고심하고 있는데 방선균이 이와같은 구조특이성 효소의 존재는 구조특이성이 있는 화합물질 합성에 효소촉매원으로 사용할 가능성이 높아서 중요한 의미를 갖는다.

**방선균의 조절기작의 다양하다 :** 방선균의 조절기작의 다양함은 효소촉매의 기본요건중 초정밀한 반응에 관여하는 효소의 존재를 의미한다.

**방선균의 생리대사 연구가 풍부하다 :** 방선균은 산업적으로 유용한 물질을 많이 생산하기 때문에 발효를 하는 생리대사에 대한 연구가 풍부하기 때문에 방선균에서 효소자원 이용의 경우도 산업적으로 전환이 손쉽게 이뤄지리라 판단한다.

이외에도 유전공학, 단백질공학 및 생물공학기술과 같은 주변기술의 발전은 방선균의 효소자원으로서의 이용성과 잠재력이 더 크게 하였다.

### 효소탐색방법

효소의 탐색방법은 유용한 효소자원을 찾을 수 있을지의 여부를 결정하는 데 중요한 요인으로 작용하는데, 목적에 따라 특이반응효소를 탐색할 때와 고역가의 효소를 탐색할 때와 다르게 탐색되는데, 우선 특이 반응효소의 탐색을 고려해 보면 특이효소를 찾기 위해서는 보통으로 사용하는 효소와는 다른 특이한 기질을 사용하는 방법을 생각할 수 있는데, 효소의 기질에 대한 특이성 때문에 흔히 사용하는 기질을 사용하면 용도에 맞지 않는 효소나 기존의 효소를 찾기 쉽다. 이때 기질뿐만 아니라 기질과 효소가 작용하는 물리화학적 환경인 pH, 온도, 압력 및 특수화학물의 존재하 반응등을 변화시키는 방법도 좋은 방법이다. 특이한 측정방법의 선택도 중요한 의미를 갖는데, 주로 사용되는 방법은 형태적 관찰과 효소반응후 반응물의 조사로 대별할 수 있다. 형태적관측은 미생물을 생육시키면서 동시에 관측하는 경우와 배양후 배양액으로 조사하는 경우로 나누는데, 미생물생육과 동시관측시는 Cytoplasmic enzyme, Cell bounded enzyme 및 Cell free enzyme과 같은 효소의 미생물 Cell내의 존재위치를 구분할 수 없는데 비해서, 배양후 측정하면 효소의 존재위치를 구분해서 측정할 수 있게 된다. 형태적 관측의 일반적인 예는 Clear zon의 관측, 발색단 부착기질을 사용하여 색깔관찰, 생산성 등을 이용해서 발색시약사용 등이 있고 근래는 Photodiode을 이용하는 Reflectance method, Far-infrared을 이용한 방법을 이용해서 반응도 뿐만 아니라, 반응산물도 직접적으로 측정하는 방법이 개발되었다. 반응산물의 측정은 Spectrophotometer, HPLD, GC 및 TLC 등을 많이 사용하고 근래는 구조적인 특이성까지 측정하는 Spectropolarimeter을 채용하고 있다. 효소저해제를 사용하는 방법은 효소의 저해제 또는 효소반응물의 최종산물의 유사체 (Analog)을 사용하는 방법이 그 중요한 예로 들 수 있는데, 최

중산물 유사체를 이용해서는 효소반응의 Feed Back Inhibition이 제거되어 생산성이 아주 획기적인 효소원 개발을 할 수 있는 경우도 있다. 저해제를 사용할지는 특이 반응효소의 탐색을 유도할 수 있는데, 대표적인 예로  $\beta$ -Amylase의 탐색의 경우,  $\beta$ -Amylase는  $\alpha$ -Amylase와 구분할 수 없는데,  $\alpha$ -Amylase의 저해제인 S-AI을 기질중에 넣고서 선정하면  $\beta$ -Amylase만 특징적으로 선정할 수 있게 된다. 고역가 효소균주 개발은 고농도의 기질을 사용해서 Clear zone을 크게하는 경우와 최종산물 저해가 풀려서  $V_{max}$ 의 숫치가 큰 효소의 탐색에도 중요한 의미를 갖게된다. 따라서 효소측정 방법의 독자적인 개발은 효소자원의확보에 중요한 의미를 가지게 된다.

**산업별 효소산업의 응용과 방선균의 잠재력**

**식품공업**

식품공업은 감미료산업, 식품소재산업, 유가공업, 음료사업 등에 효소가 많이 사용되는데 우선 감미산업부터 고려하면 탄수화물에서 저분자 감미료를 생산하는 경우와 Aspartam 생산으로 대별할 수 있다. 탄수화물 저분자 감미료는 근래에는 신건강관련 식품 소재로의 활용과 동시에 산업화 되고 있다. 탄수화물로부터 저분자의 당류생산을 요약하면 그림 1과 같이 표시된다. 최근 저칼로리의 감미료가 등장하기 이전에는 주로 전분에서  $\alpha$ -Amylase, Glucoamylase을 이용한 Glucose을 생산하고 생산된 Glucose을 이용하여 Glucose isomerase을 이용해서 이성화당(Hilgh Fructose m Syrup)을 생산하게 되는데, 이때 사용되는 Glucose isomerase는 *Actinoplanes missourinensis*,

*Microbispora rosea*, *Micromonospora coerulea*, *Streptomyces kanamyceticus*, *Streptomyces nigrificans*, *Streptomyces violaceoruber* 등의 방선균이 주로 생산하고, 산업화의 시작은 1960년 중반 일본의 Soto 등이 방선균에서 효소분리를 시작했고, 1966년 일본의 Sammatsu사에 의해서 미생물담체를 이용한 연속 효소반응기를 만들어 HFCS을 시판하게 된다. 방선균에서 Glucose isomerase에 관한 논문용 현재도 계속 발표되고 있다.

근래에는, 인간의 건강에 대한 관심도가 점차 높아짐에 따라 건강을 유지하는데 중요한 영향이 미친다는 건강식품소재의 실용화, 특수한 기능을 갖는 기능성 저분자 당류개발에 관심을 갖게됨에 따라 여기에 이용되는 효소, 즉 Pullulanase, Glucosyl-transferase, Xylanase 및 Chitinase등이 많이 연구되었다. 이때 사용되는 효소는 최종산물이 탄수화물을 분해 또는 합성시킬 때 대부분의 탄수화물이 Hydroxyl기를 많이 가지고 있고, 이 Hydroxyl기가 화학적 방법에 의해서 분해 및 합성이 될 때는 Site specific한 특성이 없기 때문에 고기능의 생리활성을 갖는 기능성 탄수화물의 제법에는 화학적 방법이 유용하지 못하다. 하지만, 효소적 합성 및 분해방법은 고도의 정밀도가 높은 반응이 가능하므로 탄수화물의 Site specific한 반응을 유도할 수 있다. 대표적인 효소생산균주로는 Amylase의 경우는 *Streptomyces hygroscopicus*, *Streptomyce praecox*, 내열성으로는 *Thermomonospora curvata*, *Thermomonospora vulgaris*, Xylanase의 경우는 *Streptomyces flavogriseus*, *Streptomyces lividans*가, Chinase의 경우 *Streptomyces grises*, *Streptomyces orientalis*, *Streptomyces antibioticus*가 생산균주로 보고되고 있고, 이분야의 효소도 최근문헌에 계속 보고되고 있다. 1,3- $\alpha$ -glucanase을 생산하는 *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces cellulosaе*는 사람의 잇빨에 생성되는 플라그를 제거하는 효소 제거제로 사용되기도 한다.

Aspartam은 화학적 방법과 효소적인 합성이 가능한데, 화학적인 중금속 촉매와 유기용매의 사용으로 잔류성에 문제가 될 뿐만 아니라  $\alpha$ -,  $\beta$ -aspartam을 동시에 생산한다.  $\beta$ -aspartam은 쓴 맛성분이기 때문에 분리해 제거해야 하는데, 이성질체이기 때문에 분리방법이 까다롭다. 하지만, 효소합성법은 중금속 및 유기용매의 잔류성 문제도 해결할 수 있을 뿐 아니라,  $\alpha$ -aspartam만 선택적으로 생산하기 때문에 유망한 제법이고 현재, 일본 Toyosoda등에서 이 방법에 의해서 생산하고 있다. 이때 사용되는 효소는 Coupling반응에 단백질분해 효소인 thermolysin을 사용하는데, 이와 같은 단백질 분해효소 생산방선균은 *Streptomyces retus*, *Thermoactinomyces albus*, *Thermomonospora vulgaris* 및 *Thermomonospora fusca*에 대한 보고가 있다.

최근 보고(J. Industrial Microbiology, 10, 25, 1992)에서는 *Streptomyces fradiae*의 경우 Tylosin의 생산경향과 단백질분해 효소의 생산 Pettern이 비슷하고 특히, 항생제 고생산균주가 역시 효소를 많이 생산해 준다는 보고를 했는데, 이는 현재가

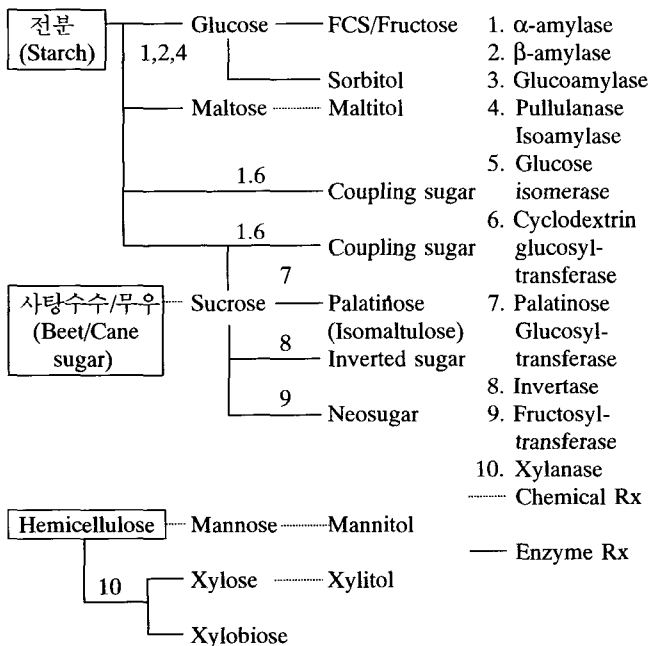


그림 1. 탄수화물로부터 저분자의 당류생산과 관련효소.

지 방선균을 항생제생산성을 높이기 위해서 변이주를 만들었는데, 이 변이된 균주가 그대로 효소 생산에도 바로 활용될 가능성이 높음을 의미하는 결과이다.

**화학공업**

**아미노산 공업** : 아미노산은 식품첨가제, 사료첨가제 및 의약품제제의 생산에 이르기 까지 광범위하게 사용되었는데, 생산방법은 발효법, 화학합성법 및 효소법으로 나눌 수 있다. 발효법에 의해서는 glutamic acid, lysine이 이미 상업적으로 생산되고있고, 비교적 화학구조가 간단한 methionine glycine은 화학합성법에 의해서 생산하고 있다. 효소에 의한 아미노산의 생산은 광학분할법(Enzymatic optical resolution)과 효소전환법((Enzymatic conversion)으로 구분되는데, 광학분할법은 DL-체의 아미노산 유도체를 만든후 특정효소를 이용해서 D-또는 L-체의 아미노산을 만드는 기술로 사용되는 효소와 생산품은 표 2와 같다.

표 2에서 보는 바와 같이 방선균은 Aminopeptidase 방법에 의한 D-valine을 생산하는데 이용되고 있지만 앞으로 방선균을 이용한 효소촉매의 개발이 더 활발히 이루어진다면 개발되는 방선균 효소촉매가 효소광학 분할법용 효소촉매가 증가하리라고 판단된다. 효소전환법은 효소반응을 이용해서 전구 물질로부터 광학활성 아미노산을 직접적으로 생산하는 방법으로 현재, L-alanine, L-lycine, L-tryptophan, L-aspartate, L-DOPA가 이방법에 의해서 생산하고 있다. 광학활성은 L-DOPA의 경우는 파킨슨씨 병의 치료제, 항생제 및 주요의학제제의 원제로서 중요한 의미를 가지고 있다. 이와같은 광학활성 아미노산에 관련되는 효소는 aspartate β-decarboxylase, aspartase, L-glutamic decarboxylase, arginine deiminase, cysteine desulfhydrase, β-tyrosinase, L-phenylalanine ammonia lyase, phenylalanine transaminase, L-serine hydroxymethyltransferase, methanol dehydrogenase 및 D-amino acid acylase가 많이 사용되고 있다. 이런 효소를 생산하는 방선균으로는 *Streptomyces olivaceus* *Streptomyces taurus*, *Streptomyces sparsogenase* 및 *Streptomyces roseiscleroticus*가 보고되고 있다.

**항생제공업** : 항생물질의 생합성에 관련된 효소는 보통

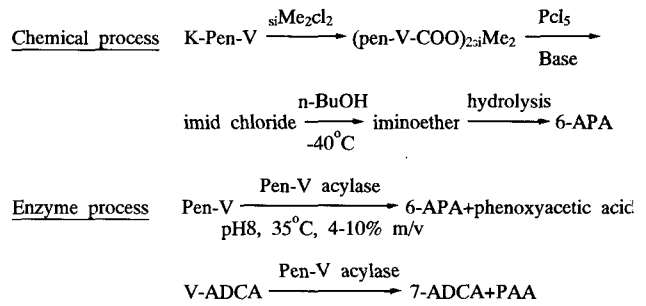


그림 2. Penicillin에서 6-APA로 효과적 및 화학적 전환반응.

200여 가지 이상되는 것으로 되어 있어서 항생제의 완전한 효소화합 합성은 현재의 효소방법으로는 불가능하지만 β-lactam계 항생제중 반합성 β-lactam인 6-aminopenicillanic acid(6-APA) 및 7-aminodeacetoxy-cephalospora-cillanic acid (7-ADCA)의 생산에 효소촉매가 이용되어 왔다. Penicillin V에서 6-APA로 전환하는 화학적방법과 효소적인 방법을 비교한 그림 2를 보면 화학적 공정은 유기용매와 오염화인등의 유독성 잔류물질로 인한 폐액의 처리 및 제품의 혼입으로 인한 인체에 대한 안전성이 문제될 뿐만 아니라 매우 저온에서 반응해야만 되는 단점 때문에, 화학적 합성시의 문제점을 해결할 수 있는 효소전환 방법을 사용하고 있다. 특히 선진국들은 자국의 산업보호 목적으로 수입에 대해서는 전량 효소전환법에 의한 항생제만 가능하게 할 가능성이 커짐에 따라서 효소전환 방법에 필요한 효소 및 전환공정의 개발은 시급한 실정이다. 이와같은 항생제 효소전환 반응에 사용되는 효소는 penicillin amidase, cephalosporin amidase가 주로 사용되는데, 방선균중 *Streptomyces clavuligerus* 및 *Streptomyces tendae*가 대표적 cephalosporin amidase을 생산하는 균주로 보고 되고 있다.

**범용화학제품산업** : 화학제품산업에서 효소전환공정을 이용하는 대표적인 예는 acrylamide와 유기합성제를 이용한 유기효소합성법을 이용한 chiral compound의 제조이다. Acrylamide는 폐수처리용 응집제, 지력증강제 및 토지개량제 등에 사용되는 polyacrylamide의 원료인데, 현재까지는 acrylonitrile을 구리촉매하에서 수화시키는 방법을 사용했는데, 근래에 일본의 Yamada 교수와 Nitto사가 acrylonitrile을 nitrile hy-

표 2. 효소광학분할법에 의해서 광학활성아미노산 생산에 사용되는 효소와 생산품

사용방법	효소/미생물	아미노산	회 사
Esterase method	<i>Subtilisin</i>	D-phenylglycine	Bayer
Aminoacylase method	<i>Aspergillus oryzae</i>	L-methionine	Tanabe
		L-phenylalanine	Ajinomoto/
		L-tryptophan	Degussa
		L-tyrosin	
Hydatoinase method	<i>Pseudomonas striata</i>	L-phenylalanine	Tanabe
Aminopeptidase method	<i>Pseudomonas putita</i>	D-phenylglycin	DSM
	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	D-valine	

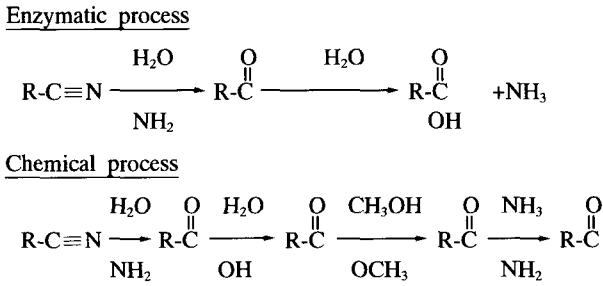


그림 3. Acrylamide의 효소적 및 화학적 합성경로.

drolase의 반응 이용한 acrylamide을 생산하는 공정을 성공시켜서 산업화 하였다. 화학합성과 효소합성법을 비교한 그림은 그림 3에 나타나 있는 방법에서와 같이 화학적반응은 amide단계에서 반응이 완전히 정지시키는 것이 불가능해서 일부가 carboxylic acid로 분해되기 때문에 다시 ether를 거쳐서 amide로 전환시켜야 한다. 또한 화학합성법에서는 고온에서 반응시켜야 되는 단점 때문에 낮은 온도에서 반응하는 효소반응법이 에너지 절감차원에서 효과도 높다. 효소전환법에서는 생산된 acrylamide가 amidase에 의해서 다시 분해가 되기 때문에 amidase 역가가 없는 효소촉매의 선발이 중요하다. Acrylamide을 생산하는 효소는 *Rhodococcus rhodochrous*란 균주를 이용해서 7,000 g(g cell)<sup>-1</sup>의 단위로 생산하여 화학적 생산방법보다 훨씬 저렴한 가격으로 생산하고 있다. 이분야에 대해서는 방선균 효소가 최선단을 달리고 있음을 알 수 있다.

유기용매계에서의 효소반응을 이용한 광학활성 화학제제의 생산은 효소가 기질특이성, enantioselective, regioselective할 뿐만 아니라 효소가 화학반응에 비교해서 상당히 mild한 조건에서 반응하는 특성 때문에 미래의 무공해, 저자원, 고효율의 저에너지 산업을 유도할 수 있는 중요한 분야로 판단한다. 하지만, 이와같은 효소촉매를 유기화학시스템에서 본격적으로 사용되기 위해서는 기존의 효소가 이런 용도로 사용될 때의 문제점인 고온, 극산성 및 알칼리성에 쉽게 저해되는 성질, 대부분의 유기용매에서 효소의 역가가 한계를 가지는 성질, 조효소문제, 효소가 product 및 기질저해성을 갖는 성질 및 효소가격이 화학촉매 보다 상대적으로 비싼 단점을 극복해야 된다.

효소가 화학촉매로서의 부적합성은 최근에 고도로 개발된 탐색,유전자공학,단백질공학,생물공학 및 고분자 Modeling 및 효소이용기술의 개발로 점차 해결되어가고 있기 때문에 효소촉매 이용분야는 미래의 식품소재, 제약, 정밀화학, 환경 및 유기, 석유화학공업을 주도해 나가리라 전망한다.

유기화학합성에 주로 사용되는 효소는 lipase, aldolase, alcohol dehydrpgenase 및 protease 가 많이 많이 사용되고 있다. Lipase의 경우는 유기화학 합성의 촉매로 가장 많이 사용되는 효소인데 *Pseudomonas*, *Candida*, *Aspergillus* 등이 가장 많이 사용되는 효소인데 Rapp등 (Enzyme Microb. Technol., 1992)

생물산업

의 결과에 의하면 *Streptomyces*와 *Nocardia*가 *Aspergillus*나 *Pseudomonas* 못지 않는 효소자원으로 보고되고 있어서, 이런 용도의 효소촉매 개발에 방선균도 중요한 자원으로 평가한다. Aldolase, protease 및 dehydrogenase의 경우도 방선균에서 풍부하게 존재하기 때문에 이분야에 독특한 탐색방법의 개발로 실용화가 가능하리라 판단한다.

**의료 및 정밀화학**

의료분야는 주로 진단용 효소와 치료용 효소자원에 대해서, 정밀화학은 유전공학기법을 이용하는데 필요한 제한효소, 효소면역 측정, 효소전극, 효소트랜지스터 등에 대해서 많이 연구되고 있다.

**의료용 효소** : 의료용 효소중 치료용 효소로 사용되는 urokinase, proteinase, fibrinolytic enzyme, urate oxidase, L-asparaginase, serratiopeptidase, streptokinase, lysozyme, bromelain, trypsin, kallidinogenase, hemocoagulase, β-galactosidase, amylase, hemicellulase, cellulase, lipase 등 많은 종류의 효소가 소화계, 순환계 등 인체의 여러분야의 치료제로 사용되고 있고, 이런 효소를 생산하는 방선균도 굉장히 많이 보고되어 있다. 몇가지 예를 들어 보면 혈전용해력이 있는 효소는 *Streptomyces clavuligerus*, *Streptomyces fulvoviridis*, *Streptomyces thermovulgaris*, *Streptomyces gedanensis*, *Hyperuricemia*에 효과 있는 urate oxidase는 *Streptomyces cyanogenus* 및 *Streptomyces gannmycicus*, *Antineoplastic* 역가가 있는 L-asparaginase는 *Streptomyces karnatakensis*등 수없이 많은 효소가 보고되고 있다.

**진단용 효소** : 진단용효소는 glucose, urea, cholesterol등 대사산물을 측정하여 질병의 발생여부를 알거나 인체의 순환계 내부에 존재하는 효소량의 변화를 측정함으로써 질병발생 여부를 평가하는 두가지 방법으로 구분하는데, 후자의 경우는 glutamate-oxaloacetic transaminase, glutamate-pyruvate aminotransferase, creatine Kinase 및 pancreatin amylase등이 가장 많이 사용되는데 이 경우는 malate dehydrogenase, lactic dehydrogenase, hexokinase 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase등 보조효소로 사용된다. 대사산물의 측정은 glucose를 혈액중 또는 뇨중의 포도당을 측정하는데, glucose oxidase, peroxidase, hexokinase 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase, 효소를 측정하는데는 urease, 지방을 측정하는데는 lipase, cholesterol을 측정하는데는 cholesterol dxidase 및 peroxidase 등의 효소가 사용되고 있고, 이들효소도 역시 방선균에서 많이 생산하고 있다. 대표적인 예로는 간경변, 영양실조, 빈혈, 당뇨병, nephrosis, 및 담도폐색 등을 진단하는데 지표로 사용하는 cholesterol dxidase는 *streptomyces griseocarneus*, *streptover-tillium*이 생산하고 있다.

**정밀화학** : 정밀화학용 중 제한효소는 유전공학기술이 보

변화기술로 자리잡고 overproduction을 유도하기위한 생명공학 근간의 기술로 자리잡음에 따라 수요가 급속히 확대되고 있다. 현재, 600여종의 restriction endonuclease가 보고되고 이중 상당한 수가 방선균에 존재하고 있다. 방선균이 생산하는 대표적인 제한효소는 *Nae I*, *Nar I*, *Nco I*, *Not I*, *Nur I*, *Sac I*, *Sac II*, *Sal I*, *Sal I*, *Sau 3AI*, *Sca I*, *Sfi I*, *Sph I*, *Sst II*, 및 *Stu I*이 실용화되어 있고 현재는 방선균이 생산하는 제한효소는 70여개로 보고되는데, 방선균의 다양한 변이생리를 고려하면 방선균은 이 분야에 대한 보물창고로 판단한다. 제한효소를 생산하는 대표적인 방선균은 *Saccharothrix aerocolongenes*, *Nocardia aegentinaensis*, *Nocardia corallina*, *Streptomyces achromonas*, *Streptomyces albus*, *Streptomyces caespitosus*, *Streptomyces fimbriatus*, *Streptomyces phaeochromogenes*, *Streptomyces stanfordii*, *Streptomyces tubercidicus*, *Actinomadura*, *Verticillum* 및 *Thermopolyspora* sp가 보고되고 있다.

효소면역측정에는 turnover rate가 빠른 효소가 항체에 붙음으로서 효소의 역가를 측정하므로 측정하고자 하는 미지성분을 정량하는 방법으로, 사용되는 효소는 반응 후 색깔을 나타내는 효소를 사용하는데, 이 경우 효소에 대해 반응하는 방선균으로 보고된 바가 없지만 peroxidase, alkaline phosphatase는 방선균에서 탐색될 가능성이 높다. 효소전극은 효소반응 결과, 발생하는 분해산물의 양을 고정화 된 효소의 반응에 의해서 측정되는 원리로 포도당, BOD측정에 사용되고 있다. 효소 thermister는 효소반응의 결과 생기는 온도변화를 측정, 효소트랜지스터는 고정화 효소와 수소, 암모니아 등에 민감한 field effect transistor(FET)을 결합시킨 enzyme field effect transistor (ENFET)를 이용해서 분석용 센스를 개발하는데 이런 센스는 수십마이크론 정도로 만들어 인체의 체내로 주입할 수 있게 된다. 이와같은 효소면역측정, 효소전극 및 효소트랜지스터는 효소의 이용을 전통적인 개념에서 최첨단 생체공학기술로 확장까지 가능하게 하는 분야이고 이분야에도 방선균의 효소의 적합성 여부, 방선균 효소의 이용 방안을 연구해야 될 분야로 생각한다.

## 결 언

방선균은 현재까지는 이차대사산물인 항생제, 생리조절물질, 항암제 및 세포조절물질의 탐색과 생산이란 명제하에서 많이 연구되어 와서 방선균의 연구가 마치 이차대사산물 연구에만 국한된 분야로 인식된 것 같고, 실제 방선균에서 효소, 아미노산 등 일차대사산물에 대한 연구는 주연구분야로 초점이 맞춰진 것 같지는 않다. 현재 사회가 무공해, 저에너지, 고효율화의 기술사회로 맞추워 발전해가기 때문에 이에 대응된 신기술, 신자원의 개발은 중요한 의미를 가지고 신기능의 효소촉매개발은 여기에 부응하는 연구과제로 평가된다. 전술한 바와 같이 방선균에서 생리조절기능이 다양하여 여기에 관련

된 효소자원은 무궁하리라 판단되기 때문에 방선균에서 신기능 효소자원의 체계적 개발은 중요한 분야로 대두되리라 전망한다. 물론, 방선균에서 기능성 효소촉매의 개발은 자원의 탐색이 우선되어야겠지만, 아울러 이 분야에 필요한 유전공학기술, 단백질공학기술 및 생물공학기술이 동시에 발전해야 될 것으로 판단되기 때문에 방선균을 자원으로 하여 효소를 탐색, 개량, 생산하는 연구팀의 구성이 중요하다고 결론지으면서 본장을 마무리 하겠다. 마지막으로 효소에 대한 분야가 너무나 광범위하여 극히 한정된 분야에서만 본장에서 다루었음을 말해두고 싶다.

## 참고문헌

1. Stinson, S. C. 1994. Chemical & Engineering News. Sept.: 38-72.
2. Faber, K. and M. C. R. Franssen. 1993. Porspects for the increased application of biocatalysts in organic transformation. *Trends in Biotechnol.* Nov. 4: 461-472.
3. Schults, H. W. 1960. Food enzymes Avi publication.
4. Wallerstein, L. 1911. U. S. Patent 995820.
5. Nagasawa, T. and H. Yanada. 1989. Microbial transformations of nitriles. *Trends in Biotechnol.* 7: 153-158.
6. Wiseman, A. and H. Dalton. 1987. Enzymes versus enzyme-mimetic systems for biotechnological applications. *Trends in Biotechnol.* 5: 241-244.
7. Lerner, R. A. and A. Tanontano. 1987. Antibodies as enzymes. *Trends in Biohem. Sci.* 12: 427-430.
8. Reed, G. 1975. Enzymes in Food processing, AP, New York.
9. 山口博修. 1987. Bio新素材, 大河原信, 松永是 監修, 369.
10. 犀月輝久. 1992. *BioIndustry*, 9(8): 497.
11. 宇山直人, 安部京子. 1993. *BioIndustry*, 10(6): 5.
12. 佐藤整, 大門浩作. 1991. *加工技術*, 26(3): 183.
13. Iric, Y., M. Mitsukura and K. Hata. 1990. Proceeding of paper-machines conference I.
14. Aida, K., Chibata, I., Nakayama, K., Takinami, K., and Yamada H. 1986. Biotechnology of amino acid production, Elsevier, Amsterdam.
15. 都築 昭, 小松謙一, 市川茂, 涉谷友三. 1989. *日本農藝化學會誌*, 63(3): 489.
16. Nagasawa, T., K. Takeuchi and H. Yamada. 1988. Occurrence of a cobalt-induced and cobalt-containing nitrile hydratase in *Rhodococcus rhodochrous* J1. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 155: 1008.
17. KINITI Technical Report No 72. 1992. 의료용 효소의 개발 동향과 육성방안, 산업기술정보원.
18. Peczynska-Czoch and M. Mordarski 1988. Actinomyces Enzyme., in "Actinomyces in Biotechnology" (Ed by Goodfellow, M., S.T. Williams and M. Mordarski) Academic Press, 219-283.