

## 유용 · 의약품 D-아미노산 생산 생물전환기술

성문희 · 이승구

생명공학연구소 미생물전환연구Unit

20세기의 물질적 풍요를 주도하고 있는 화학산업은 원료 화학물질을 다른 물질로 전환(conversion)하여 부가가치를 올리는 작은 개념에서 출발하였으나, 오늘날에는 대규모 산업으로 급속히 성장하였다. 화학산업의 급속한 발전은 전자, 기계, 소재산업을 포함한 모든 산업발전에 획기적으로 기여하였으나, 고온, 고압, 유독성 용매에 의한 산업안전 문제 및 방류수에 의한 환경오염 문제 등의 새로운 문제점을 야기 시키고 있다. 이러한 이유로 화학합성 공업의 비효율성 및 지구환경에 대한 문제점을 극복하기 위한 대체기술 개발(alternative technology)에 관심이 집중되고 있다[1, 2].

생물전환기술(bioconversion technology)은 생체 내에 존재하는 복잡 · 다양한 생체물질의 불활성기(unactivated position)에 정확하게 작용하는 생체기능을 이용하여 원료 화학물질을 고부가가치의 산물로 전환시키는 생물공정이다. 이러한 생물전환 반응은 분명하게 정의된 생화학 반응에 의하여 원료 물질을 원하는 물질로 변화시킨다는 점에서 생체의 다단계 복합대사(metabolism)를 경유하는 항생제, 아미노산, 유기용매 등의 생산기술인 발효기술과 구분된다. 생물전환 반응에 사용되는 생물 촉매로는 생육이 빠르고, 배양이 쉬우며, 다양한 화학 반응을 수행할 수 있는 세균, 곰팡이, 효모 등의 미생물들이 보유하고 있는 효소가 가장 적합하여 집중적으로 연구되고 있다.

생물전환기술의 장점은 통상적으로 화학반응이 수행되기 어려운 상온 · 상압의 조건에서 수행되는 정교한 반응성과 생물전환반응의 다양성에 있다. 이러한 정교한 반응특성은 스테로이드처럼 복잡한 물질의 특정 탄소를 구별하는 구조 특이성(regiospecificity), 동일 분자내 다른 기(functional group)와의 상대적 구조(conformation)를 구분하는 입체 특이성(stereospecificity), 그리고 원하는 광학 이성질체만을 생산할 수 있도록 하는 광학 특이성(enantiospecificity)의 세 가지로 집약된다.

본 총설에서는 생물전환기술 중에서도 최근들어 산업적 응용이 크게 확대되고 있는 유용 · 의약품 D-아미노산의 생산을 위한 생물전환기술에 관하여 다루어 보고자 한다.

D-아미노산은 화학적으로 안정성이 높을 뿐만 아니라, 이들이 가지고 있는 다양한 성질 때문에 항생제 합성 원료물질, 감미료, 조미료, 식품첨가물, 공업용 원료 등의 다양한 산업분야에서 사용되고 있고[3], 의약분야에서는 표 1에 나타낸 바와 같

이 특정 질병에 대한 치료제로서의 용도가 개발되어 고순도의 약품 원료로서의 수요가 계속 증대되고 있다. 특히 반합성 페니실린이나 반합성 세파로스פור린의 합성원료인 D-p-히드록시페닐글리신, D-페닐글리신과 농약 합성 중간체인 D-발린 등이 산업적으로 다량 사용되고 있다[4]. 최근에는 효소분해에 대하여 보다 안전한 생리활성물질을 개발하기 위하여 D-아미노산을 사용하여 생리활성 펩타이드의 말단을 보호함으로써 L-이성질체에 특이적인 활성을 갖는 펩타이드 분해효소가 작용하지 못하도록 하는 용도개발 연구 등이 수행되어 광학적으로 순수한 D-아미노산의 산업적 생산에 대한 관심이 더욱 증가하고 있다.

생물전환기술을 이용한 의약품 아미노산 생산은 화학합성 반응법과 효소법이 병행된 반합성법(chemico-enzymatic process) 또는 복합공정(hybrid process)으로 구성된다. 이러한 생물전환법에 의한 D-아미노산 제조법은 화학반응으로는 곤란한 반응을 효소 반응의 도입에 의하여 효율적으로 수행할 수 있는 특징과 각종 연관 아미노산을 동일한 시스템을 사용하여 제조할 수 있다는 장점이 있어 유용 · 의약품 D-아미노산의 새로운 제조법으로 점차 산업화되고 있는 추세이며[5], D-아미노산 생산을 위한 생물전환기술을 출발물질(starting materials)의 종류에 따라 구분하여 각 생물전환기술의 특징을 소개하고자 한다(표 2).

### (D,L)-아미노산아미드로부터 D-아미노산의 생산

(D,L)-아미노산아미드로부터 D-아미노산을 생산하는 생물전환기술은 D-아미노산아미드에만 특이적으로 작용하는 D-아미노펩티다아제(aminopeptidase) 또는 D-아미다아제(amidase)

표 1. 유용 · 의약품 D-아미노산의 종류 및 용도

D-아미노산	용도
D-p-Hydroxyphenylglycine	Amoxicillin 합성원료
D-Phenylglycine	Ampicillin 합성원료
D-Valine	살충제 Fluvaline 합성원료
D-Cysteine	β-lactam 항생제 촉매
D-Aspartate	β-lactam 항생제 촉매
D-Homophenylalanine	angiotensin 변환저해제 원료
D-Lysine	아스피린 용해 개선제
D-Phenylalanine	HIV 감염예방
D-Proline	HIV 감염예방

**표 2.** 유용·의약품 D-아미노산 생산을 위한 생물전환기술

출발물질	사용 생물촉매	참고문헌
Amino acid amides	D-Aminopeptidase or D-Amidase	[6-12]
Hydantoins	D-Hydantoinase/N-cabamoylase	[13-23]
α-Keto acids	D-Amino acid aminotransferase	[24-28]
L-Amino acids	Amino acid racemase/decarboxylase	[29-33]

를 생물촉매로 사용하여 광학적으로 순수한 D-아미노산을 제조하는 방법이다(그림 1). 이 생물전환기술의 장점은, 알데히드 화합물을 시안화칼륨, 암모니아와 강산성 조건에서 반응시키는 스트렉커법(streckor reaction)을 이용하여 이 생물전환의 출발물질인 (D,L)-아미노산아미드를 간편하게 합성할 수 있고, 생물촉매 D-아미노펩티다아제의 폭넓은 기질 특이성으로 인하여 다양한 D-아미노산의 생산에 적용 가능한 것에 있다[6].

그림 1의 생물전환반응을 수행한 후 반응용액에 잔여하는 L-아미노산아미드는 라세미화 효소(racemase)를 이용하여 라세미화 시킨 후 반응의 원료기질로 재사용하는 방법이 알려져 있으며, 벤즈알데히드(benzaldehyde)를 첨가하는 경우 불용성 쉰프염기(schiff base)를 형성하게 되므로 반응액으로부터 쉽게 분리할 수도 있다.

이 생물전환공정의 생물촉매로 사용되는 D-아미노펩티다아제는 *Ochrobactrum anthropi*, *Achromobacter cycloclas*, *Alcaligenes faecalis* 등의 다양한 미생물로부터 발견되었으나[7-9], 효소활성과 광학적 선택성이 낮아서 D-아미노산의 산업적 제조를 위한 생물촉매로서는 적합하지 않은 것으로 보고되었다. 일본의 Kyowa Hakko Kogyo사에서는 (D,L)-알라닌아미드를 원료로하여 D-펩타이드 합성감미료의 원료인 D-알라닌의 생산하기 위하여 고효율성 D-아미다아제의 탐색연구를 수행한 결과 폐수처리장의 활성오니(active sludge)로부터 *Athrobacter* sp. NJ-26을 분리하였다[10, 11]. 분리균 *Athrobacter* sp. NJ-26은 1 g(wet cell) 당 800 mol/min의 D-아미다아제 활성을 나타내는 고효율성 균주로서 미생물균체를 5 g/L농도로 첨가하고 10시간 동안 반응을 수행한 경우 105 g/L의 D-알라닌이 생산되었고 생산된 D-알라닌은 99%의 광학순도를 나타내었다[12].

한편 네덜란드의 DSM/Andeno사는 (D,L)-아미노산아미드

로부터 D-아미노산 생산을 생산하는 생물전환기술을 가장 체계적으로 확립하였으며 다음과 같은 다양한 종류의 D-아미노산 합성기술을 보유하고 있다.

**D-발린** : 살충제 합성원료인 D-발린은 (D,L)-발린아미드에 L-아미노펩티다아제를 작용시켜서 L-발린을 합성한 후, 잔여하는 D-발린아미드에 D,L-아미드를 구분하지 않는 특성의 *Rhodococcus erythropolis* 유래 아미드분해 효소를 작용시켜서 D-발린을 얻는 방법으로 수행된다.

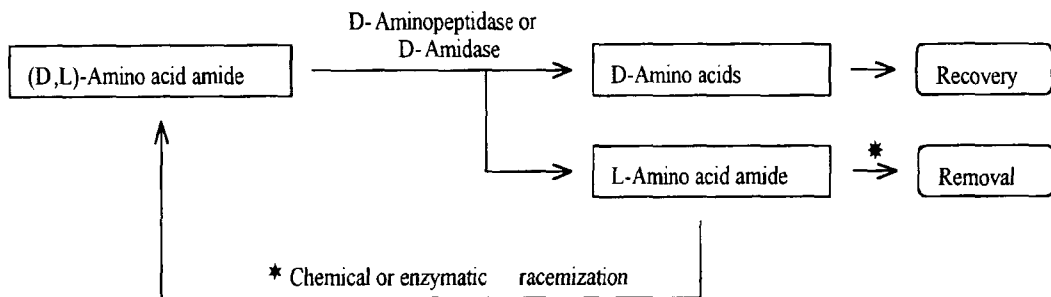
**D-페닐글리신 및 D-p-히드록시페닐글리신** : 항생제 암피실린 합성원료인 D-페닐글리신(phenylglycine)과 아목시실린 합성원료 D-p-히드록시페닐글리신(hydroxyphenylglycine)은 D-히단토이나아제를 이용하여 합성하는 공정이 대표적으로 잘 알려져 있으나 (D,L)-아미노산아미드를 원료로하는 DSM/Andeno 공정을 이용한 합성도 가능하다.

**D-페닐알라닌, D-프롤린** : D-페닐알라닌과 D-프롤린도 DSM/Andeno 공정을 이용한 합성공정이 가능하다. 이 D-아미노산들은 HIV-1 감염예방에 효과가 있는 것으로 알려지고 있어서 생산방법 및 용도개발에 귀추가 주목되고 있다.

이밖에도 D-염화페닐글리신(chlorophenylglycine)과 D-씨에닐글리신(thienylglycine)을 포함한 다양한 종류의 아미노산 및 아미노산 유도체의 생산에도 (D,L)-아미노산 아미드로부터 D-아미노산의 생산법이 적용 가능한 것으로 알려지고 있다.

### 히단토인(hydantoin) 유도체로부터 D-아미노산의 생산

D-히단토이나아제(hydantoinase)를 이용하여 세파드록실(cefadroxyl), 세파트리진(cefatrizine), 그리고 아목시실린(amoxicillin)의 합성 전구체인 D-p-히드록시페닐글리신(D-p-hydroxyphenylglycine; HPG)를 생산하는 기술은 이종(異種) 환형(環形) 화합물의 개환(開環) 반응을 이용한 아미노산 생산 생물전환기술의 대표적인 예이다[13, 14]. 히단토인 유도체로부터 아미노산을 합성하는 생물전환법의 가장 큰 장점은 이 생물전환반응의 수행조건인 약 알칼리성 용액에서 히단토인 유도체가 자연스럽게 라세미화되는데 있다. 따라서 고비용을



**그림 1.** (D,L)-아미노산아미드로부터 D-아미노산 생산 생물전환기술.

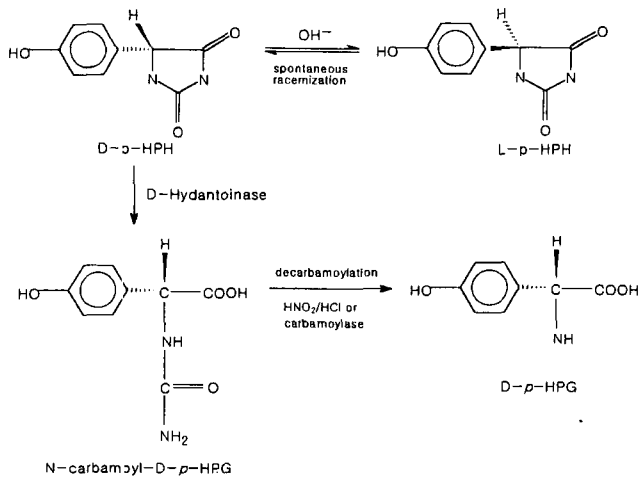


그림 2. (D,L)-p-히드록시페닐히단토인(HPH)으로부터 D-p-히드록시페닐글리신(HPG) 생산 복합 생물전환기술.

요하는 별도의 라세미화 반응없이도 한 반응기 내에서 100%의 수율로 순수한 D- 또는 L-아미노산을 생산할 수 있다(그림 2). D-히단토이나아제는 광범위한 기질에 대하여 반응성을 나타내므로 다양한 α-단일치환(5'-monosubstituted) 아미노산 뿐만 아니라 α-이중치환(5'-disubstituted) 아미노산의 합성에도 유용하게 사용될 수 있다. D-히단토이나아제 반응을 통하여 생산된 N-카바모일-D-아미노산은 동량의 아질산을 처리함으로써 쉽게 아미노산으로 전환된다. 이 생물전환 공정은 Kanegafuchi Singapore사에 의하여 반합성 항생제 원료인 D-HPG 생산공정으로 산업화되었다. 원료물질인 히단토인 유도체는 케놀, 글리옥실산(glyoxylate), 요소로부터 합성하거나 방향족 알데히드 또는 D,L-아미노산으로부터 합성하는 방법이 알려져 있다[15]. 한편 N-카바모일-D-아미노산의 카바밀기 제거반응(decarbamoylation)을 위한 촉매로써 아질산(HNO<sub>3</sub>)을 사용하는 대신에 D-히단토이나아제와 N-카바모일라아제(carbamoylase)를 동시에 생산하는 미생물인 *Agrobacterium radiobacter*를 사용하여 (D,L)-p-히드록시페닐히단토인((D,L)-p-hydroxyphenylhydantoin)으로부터 직접 D-HPG를 생산하는 방법이 개발되었다[16, 17]. 최근 일본의 Kanegafuchi 사는 D-HPG 생산공정에 생물촉매로 사용중인 고온성 미생물 유래의 내열성 D-히단토이나아제와 비슷한 수준의 내열성을 가져서 고온의 반응조건에서도 사용할 수 있는 고온성 미생물 유래의 N-카바모일라아제를 탐색·분리하였고 해당 유전자를 클로닝하였다. 이 효소의 내열성을 더욱 향상시키기 위하여 돌연변이 유발물질인 히드록실아민을 가하고 분자진화 공학적 방법을 적용한 결과 내열성이 크게 증진된 N-카바모일라아제를 개발하였다. Kanegafuchi 사는 기존의 내열성 D-히단토이나아제와 내열성이 증진된 N-카바모일라아제를 병용하는 경우 D-p-HPG 생산 생물전환 공정의 생산성이 크게 개선되었다[18]. 국

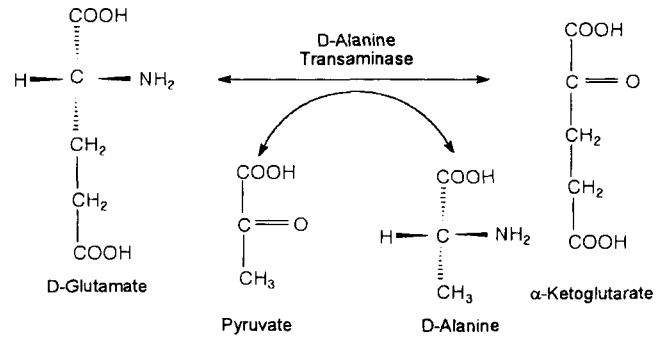


그림 3. D-아미노산 아미노기전이효소(D-AAT)에 의한 D-아미노산 생산반응.

내에서는 한국과학기술원에서 고온성 미생물인 *Bacillus stero-thermophilus* 유래의 내열성 D-히단토이나아제를 분리하여 재조합 대장균에서 대량 생산한 후 (D,L)-p-HPH로부터 N-카바밀히드록시페닐글리신(NC-p-HPG)을 생산하는 생물전환공정에 적용하였다[19-22]. 이 생물전환공정은 30%의 (D,L)-p-HPH를 기질로 가하고 50℃에서 24시간동안 반응을 수행하는 경우 95% 이상의 전환율이 달성되었다. 이 연구 결과는 D-히단토이나아제를 생물촉매로 이용하는 히단토인 개환 반응의 경우 국제적인 수준에 뒤지지 않는 고생산성 생물공정이다. 현재 (D,L)-p-HPH로부터 항생제원료 D-p-HPG를 생산하는 생물전환공정의 산업화 성사여부는 기존 화학공정을 통한 카바모일기 제거반응을 대체할 수 있는, 효과적인 생물학적 카바모일기 제거반응의 개발에 달려있다고 판단되고 있다.

### α-케토산으로부터 D-아미노산의 생산

D-아미노산 아미노기 전이효소(D-amino acid aminotransferase; D-AAT)는 아미노산과 α-케토산 사이의 광학 특이적 아미노기 교환반응을 촉매하는 효소이다(그림 3)[23, 24]. 이 효소는 조효소의 재활용(cofactor regeneration)을 위한 별도의 시스템을 필요로 하지 않고, 반응 안정성이 높으며 폭넓은 기질 특이성을 가지고 있다.

생명공학연구소에서는 (주)제일제당 종합연구소와 공동으로 국내 토양으로부터 분리된 고온성 미생물로부터, 고온에서도 안정하여 생물전환 공정의 생물촉매로 유용하게 사용될 수 있는 내열성 D-AAT를 이용한 D-아미노산 합성 생물전환 공정을 개발 연구를 수행하여 왔다. 그 결과 55-70℃의 고온에서 생육하는 토양분리 고온성 미생물로부터 내열성 D-AAT를 생산하는 고온성 미생물 4종을 탐색·분리하였다.

분리된 고온성 미생물로부터 D-AAT 유전자를 클로닝하여 DNA 염기배열을 결정한 후, Tanizawa 등[23, 24]이 보고하였던 중온성 및 고온성 미생물 유래의 D-AAT들과 염기 배열을 비교하였다. 생명공학연구소에서 분리한 4종의 고온성 미생물

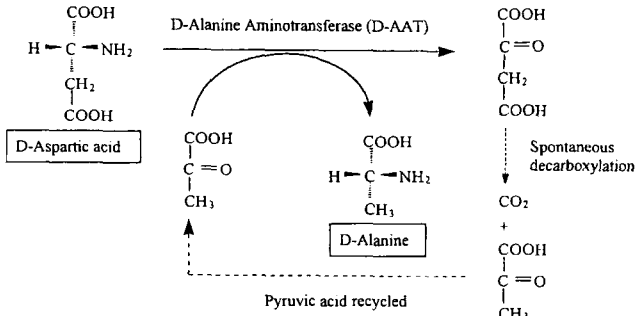


그림 4. D-아스파르트산으로부터 D-알라닌 생산 생물전환기술.

들 중에서 60°C 이상의 온도에서는 생육이 불가능한 미생물인 *Bacillus* sp. LK-1과 *Bacillus* sp. LK-2는 기존에 알려진 D-AAT 들과 유전자배열이 매우 유사하였으나, 70°C이상의 온도에서도 생육 가능한 고온성 미생물인 *Bacillus* sp. KLS-01은 전혀 다른 유전자 배열을 가지는 효소인 것으로 확인되었다. *Bacillus* sp. KLS-01 유래 D-AAT는 70°C이상의 온도에서도 실행 되지 않아서 지금까지 보고된 D-AAT들 중에서 가장 높은 내열성을 가지는 효사이므로 D-아미노산 합성 생물촉매로써 높은 산업적 가치를 지닌 효소인 것으로 판단되고 있다.

한편 재조합 대장균에서 대량 생산된 *Bacillus* sp. LK-2 유래 D-AAT는 D-아스파르트산과 피루브산으로부터 D-알라닌을 생산하는 생물전환공정의 생물촉매로 개발되었다(그림 4). 이 생물전환 공정에서는 기질인 D-아스파르트산으로부터 생성된 옥살초산이 탈탄산 반응에 의하여 피루브산으로 된 후, 다시 D-알라닌을 합성하는 반응에서 재사용 되므로 비교적 고가인 피루브산의 소모를 최소화 할 수 있는 장점이 있었다. 이 생물 전환공정은 저가의 (D,L)-아스파르트산을 기질로 사용하는 경우 잔여물질인 L-아스파르트산이 분별침전 등의 방법을 통하여 반응산물인 D-알라닌으로부터 쉽게 분리 될 수 있으므로 이 생물전환공정의 경제성 개선에 기여 할 것으로 기대되고 있다.

한편, HIV-1 감염예방 및 감미도를 증진시키는 효과가 있어서 의약품 및 감미료 원료로써의 용도개발이 기대되고 있는

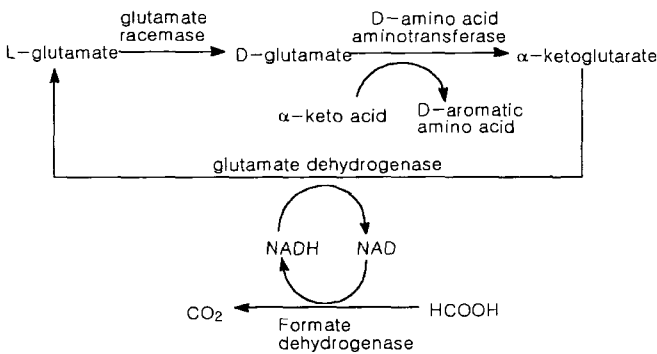


그림 5. α-케토산으로부터 방향족 D-아미노산 생산 복합 생물 전환기술.

생물산업

방향족 D-아미노산, 즉, D-페닐알라닌, D-티로신, D-트립토판의 생산을 위한 생물전환기술은 그림 5에 나타난 바와 같이 아미노산 아미노기 전이효소의 넓은 기질 특이성을 이용하여 방향족 α-케토산을 D-방향족 아미노산으로 전환함으로써 수행되었다[25]. 이 반응의 부산물인 α-케토글루타르산은 글루탐산 탈수소화효소(glutamate dehydrogenase)와 글루탐산 라세미화 효소(glutamate racemase)의 연쇄반응을 이용하여 재사용된다. 또한 글루탐산 탈수소화 효소(glutamate dehydrogenase)의 조효소인 NADH를 재사용하기 위하여 포름산 및 포름산 탈수소 효소를 사용하였다[26, 27]. 이 생물전환반응 공정은 다음과 같은 장점을 갖는다. 아미노기 전이효소를 이용하는 아미노산 합성공정의 일반적인 단점인 아미노산(이 경우에는 글루탐산)의 소모가 거의 없다. 생물전환 반응에 소모되는 기질이 α-케토산을 제외하면 매우 저가인 포름산과 암모니아만을 필요로 한다. 반응산물의 하나인 α-케토글루타르산이 생성되는 즉시 L-글루탐산으로 전환되므로 산물에 의한 반응저해가 거의 일어나지 않는다.

L-방향족아미노산은 전통적인 발효법을 비롯하여 아미노산 아릴라아제 또는 아미노펩티다아제를 생물촉매로하는 다양한 생물전환 공정이 개발되어 있지만, D-방향족 아미노산의 합성 및 생산법은 상대적으로 미진한 상태에 있다. 따라서 그림 5에 나타난 생물전환 공정을 이용한 D-방향족 아미노산의 합성법은 D-방향족 아미노산의 용도개발이 이루어짐에 따라 더욱 산업적 가치를 갖게 될 것으로 판단된다.

### L-아미노산으로부터 D-아미노산의 생산

대부분의 L-아미노산은 발효법에 의하여 경제적으로 대량 생산되고 있으므로 저가의 L-아미노산도 고부가가치 D-아미노산의 제조를 위한 원료물질로 사용될 수 있다. Kyowa Hakko Kogyo사는 발효법에 의하여 생산된 L-글루탐산또는 L-프롤린을 원료로 이용하여 합성의약품의 원료물질로 사용되는 D-글루탐산과 D-프롤린을 제조하는 생물전환공정을 개발하였다[28]. 이 생물전환공정은 1차적으로 L-아미노산의 라세미화를 통한 (D,L)-아미노산의 제조로부터 출발하며, 제조된 라세

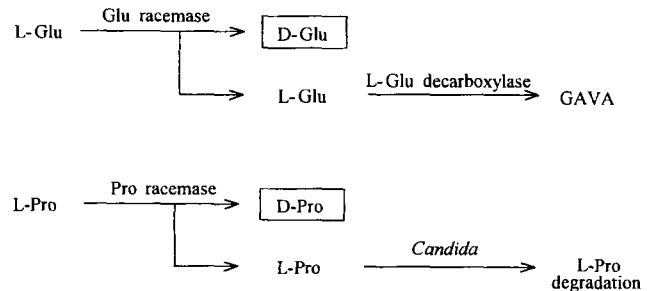


그림 6. L-아미노산으로부터 D-아미노산 생산 생물전환기술.

미 혼합물 중의 L-아미노산을 선택적으로 분해함으로써 D-아미노산을 생산하는 것이다(그림 6). 이 방법은 사용된 L-아미노산의 최대 50%만이 D-아미노산으로 전환되게 되는 수율 상의 제한이 따르지만, 발효법으로 생산되는 L-아미노산이 매우 저가의 원료물질인 관계로 해당 L-아미노산으로부터 D-글루탐산 또는 D-프롤린의 생산에 이용 가능하였다. 이 생물전환 공정의 생물촉매 글루탐산 라세마아제(glutamate racemase)는 주로 젖산균(lactic acid bacteria)에서 발견되었으며[29], 프롤린 라세마아제(proline racemase)는 지금까지 *Clostridium* 속의 미생물에서만 보고되었다[30]. Kyowa Hakko Kogyo사에서는 *Lactobacillus brevis* ATCC8287 유래의 글루탐산 라세마아제와 *Clostridium sticklandii* ATCC12662 유래의 프롤린 라세마아제를 재조합 대장균에서 대량생산하여 상기 D-아미노산의 제조를 위한 생물전환 반응의 생물촉매로 사용하였다. 라세미화 반응에 의하여 생산된 (D,L)-글루탐산으로부터 L-글루탐산을 선택적 제거에는 광학적 선택성이 높고 비가역적인 반응특성을 나타내는 *Escherichia coli* ATCC11246 유래의 L-glutamate decarboxylase를 이용하는 것이 가장 적합하였고[29, 31], D-프롤린의 생산에는 L-프롤린을 영양원으로 이용하는 효모균 *Candida*를 이용하는 것이 적합하였다. Kyowa Hakko Kogyo사에서는 이상과 같은 생물전환기술을 이용하여 99% ee의 광학순도를 갖는 D-글루탐산과 99.5% ee의 D-프롤린을 약 50 g/L 농도로 제조하였다[12].

**유용 · 의약품 D-아미노산의 생산을 위한 생물 전환기술의 개발 전략**

기존의 유용물질 생산 방식인 합성 화학공업 기술을 대체 ·

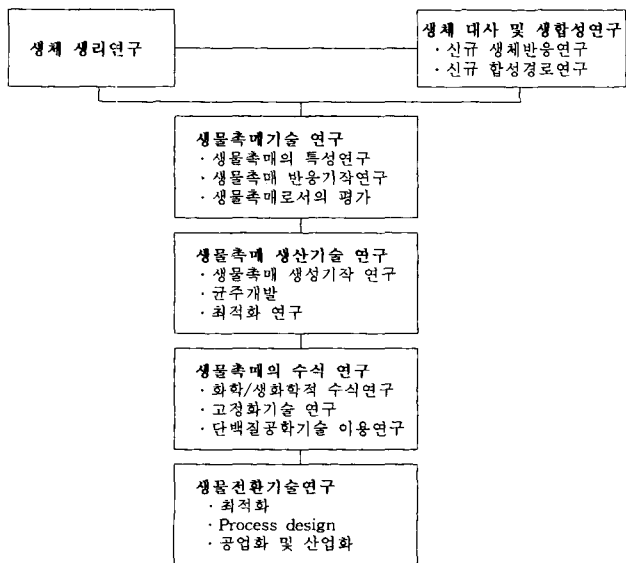


그림 7. 유용 · 의약품 D-아미노산 생산 생물전환기술의 핵심 요소기술.

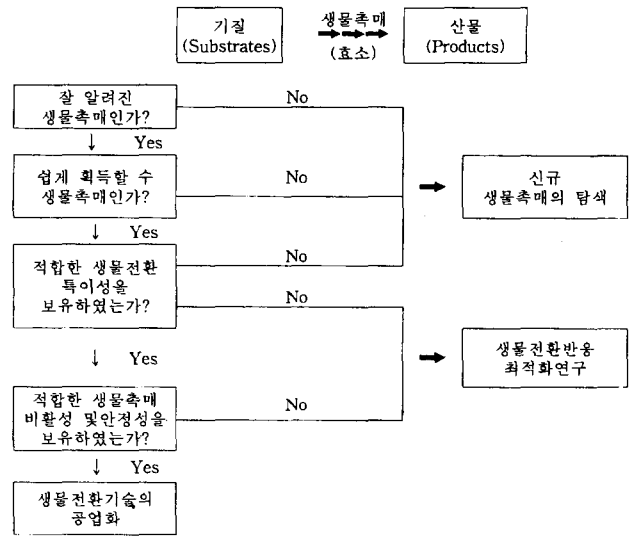


그림 8. 생물전환기술의 개발 전략.

보완하기 위한 청정산업기술(clean technology)의 핵심기술인 생체촉매 이용 첨단 생물소재 생산 생물전환 기술에 관한 연구 및 기술 개발은 미래 지향적인 첨단 생명공학기술(biotechnology)이 선택하여야 할 가장 중요한 기술 개발이라고 판단되고 있다. 이러한 기술 개발을 수행하기 위해서는 우선적으로 생체의 생리 · 대사 및 생합성과 관련된 원천 기반기술 연구가 수행되어야 하며, 이러한 내용을 기초로 하여 유용 D-아미노산 생산을 위한 생물전환 기술의 구성 요소 기술을 그림 7에 나타내었다.

그리고 그림 8에는 생물촉매를 이용하여 유용 · 의약품 D-

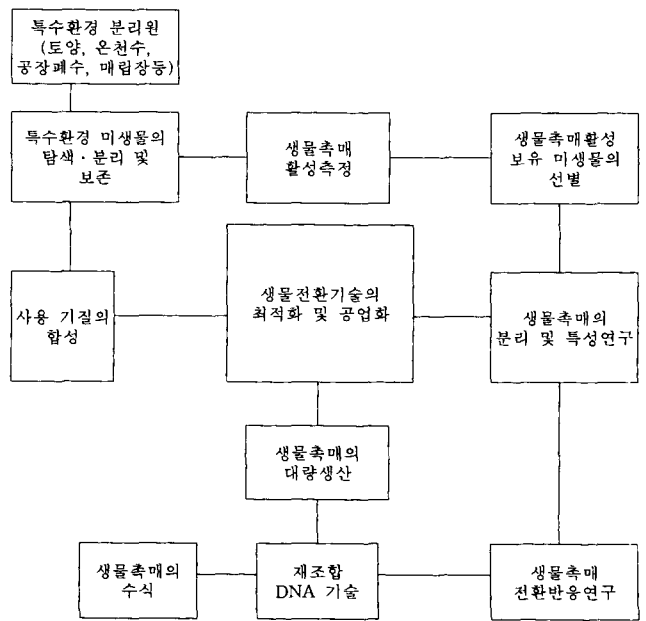


그림 9. 유용 · 의약품 D-아미노산 생산 생물전환 기술의 추진 체제.

아미노산의 합성 및 생산을 위한 생물전환 기술을 개발하고자 할 때, 검토되어야 할 생물촉매의 평가 항목을 기재하였으며, 생물전환 기술의 공업화와 산업화 기술 개발을 성공적으로 수행하기 위해서는 반드시 그림 8의 생체촉매 평가 flow-chart를 통한 제반기술의 검토가 선행되어야 한다고 판단된다.

이와 같이 그림 7과 그림 8에 나타낸 미래 첨단 생물소재의 생산기술로서의 생물전환 기술의 요소기술과 개발 전략을 바탕으로 생명공학연구소 응용미생물연구부에서 현재 추진·수행 중에 있는 미생물 및 미생물효소를 이용한 유용 D-아미노산의 생산을 위한 생물전환 기술개발 과정을 그림 9에 요약·정리하여 나타내었다.

## 맺는 말

국내의 생물전환 기술 연구는 일부 항생제 및 의약품 생산, 식품소재의 생산 등에 편중되어 있으며, 생물전환 기술을 전문으로 하는 연구자들의 저변이 아직 넓지 않다. 또한 국내의 아미노산 제조는 L-글루탐산, L-라이신, L-페닐알라닌 등의 특정 L-아미노산으로 한정되어 있어서 일본의 경우와 비교할 경우 상대적으로 제한적인 품목만이 생산되고 있는 상황으로 아미노산 품목의 다변화가 절실히 필요하다. L-아미노산의 제조 기술도 설비투자가 대단히 요구되는 전통적인 발효법에 의지하고 있어 제조공정의 다양화 역시 적극적으로 요구되고 있다. 이러한 관점에서 생물전환에 의한 유용 의약품 D-아미노산 제조기술은 화학반응으로는 어렵거나 여러 단계를 거쳐야 되는 반응을 생물촉매 반응을 도입하여 효율적으로 수행할 수 있다는 특징과 각종 연관 D-아미노산과 유도체를 동시에 한 시스템에서 합성할 수 있다는 장점이 있어 체계적인 개발을 필요로 한다.

## 참고문헌

- 성문희, 박영훈. 1996. 생물전환기술의 원리 및 응용현황. *Bioindustry* 13: 6-11.
- 정봉현, 홍순광, 성문희. 1995. 생물전환기술의 연구현황 및 산업적 이용기술. *Bioindustry* 8: 57-67.
- 鈴木智雄. 1990. 微生物工學技術 Handbook(鈴木智雄 著), 朝倉書店 編, pp. 243-254.
- Takahashi, S. 1986. *Biotechnology of amino acid production*, 269-279, Kodansha Ltd.
- 성문희. 1994. 생물촉매 및 생물전환기술에 의한 유용·의약품 아미노산의 제조 기술동향보고서(생물전환기술 및 공정 연구회 編), pp. 191-212.
- Boesten, W.H.J. et al. Ger. Pat. DE 2,526,594 of 02.01.76 to Stamicarbon BV.
- Asano, Y., T. Mori, S. Hanamoto, Y. Kato, A. Nakazawa. 1989. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 162: 470.
- Asano, Y., A. Nakazawa, Y. Kato, K. Kondo, 1989. *J. Biol. Chem.* 264: 14233.
- Dotani, M., H. Igarashi, U. Uragami, 1988. Japanese Patent Application 88-87997.
- Ozaki, A., H. Kawasaki, M. Yagasaki, Y. Hashimoto. 1992. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 1980.
- Ozaki, A., H. Kawasaki, M. Yagasaki, Y. Hashimoto. 1993. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57: 520.
- Yagasaki, M. & A. Ozaki. 1998. Industrial biotransformations for the production of D-amino acids. *J. Mol. Cat. B: Enzymatic* 4: 1-11.
- Takahashi, S., T. Ohashi, Y. Kii, H. Kumagai & H. Yamada. 1979. Microbial transformation of hydantoins to N-carbamoyl-D-amino acids. *J. Ferment. Technol.* 57: 328-332.
- Takahashi, J. et al. Eur. Pat. Appl. EP 0,175,312 of 26.03.86 to Kanegafuchi Chem. Ind. Co.
- Suzuki, T., Igarashi, K., Hase, K. and Tuzimura, K. 1973. Optical rotatory dispersion and circular dichroism of amino acid hydantoin. *Agri. Biol. Chem.* 37: 411-416.
- Runser, S. M. and Meyer, P. C. 1993. Purification and biochemical characterization of the hydantoin hydrolyzing enzyme from *Agrobacterium* species a hydantoinase with no 5,6-dihydropyrimidine amidohydrolase activity. *Eur. J. Biochem.* 213: 1315-1324.
- Runser, S. M. and Ohleyer, E. 1990. Properties of the hydantoinase from *Agrobacterium* sp. IP I-671. *Biotechnol. Lett.* 12: 259-264.
- 제조합 내열성효소를 사용한 항생물질 중간체 HPG의 제조 cost 삭감 및 실용화(1995. 4. 24) 일경 *Biotech* p. 3.
- Lee, S. G., Lee, D. C., Hong, S. P., Sung, M. H. and Kim, H. S. 1995. Thermostable D-hydantoinase from thermophilic *Bacillus stearothermophilus* SD-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43: 270-276.
- Dong-Cheol Lee, Seung-Goo Lee and Hak-Sung Kim. 1996. Production of D-p-hydroxyphenylglycine from D,L-5-(4-hydroxyphenyl) hydantoin using Immobilized thermostable D-hydantoinase from *Bacillus stearothermophilus* SD-1. *Enzyme Microb. Technol.* 18: 35-40.
- Dong-Cheol Lee, Seung-Goo Lee, Seung-Pyo Hong, Moon-Hee Sung, and Hak-Sung Kim. 1996. Cloning and overexpression of thermostable D-hydantoinase from thermophile in *E. coli* and its application to the synthesis of optically active D-amino acids. *Ann. NY Acad. Sci.* 799: 401-405.
- Seung-Goo Lee, Dong-Ceol Lee, and Hak-Sung Kim. 1997. Purification and characterization of thermostable D-hydantoinase from *Bacillus stearothermophilus* SD-1. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 62: 251-266.
- Tanizawa, K., Y. Masu, S. Asano, H. Tanaka, and K. Soda. 1989. Thermostable D-amino acid aminotransferase from a thermophilic *Bacillus* species. *J. Biol. Chem.* 264: 2445-2449.

24. Tanizawa, K., S. Asano, Y. Masu, S. Kuramitsu, H. Kagamiyama, H. Tanaka, and K. Soda. 1989. The primary structure of thermostable D-amino acid aminotransferase from a thermophilic *Bacillus* species and its correlation with L-amino acid aminotransferases. *J. Biol. Chem.* **264**: 2450–2454.
25. 성문희 등. 1996. 바이오의약품원료물질의 생산을 위한 복합 생물전환기술 개발(세부과제) 산업미생물 분자유종 및 전환 기술 개발(중과제) 기관고유사업 보고서, 생명공학연구소 BSKG1053-865-3.
26. Nakajima, N., Tanizawa, K., Tanaka, H., and Soda, K. 1988. Enantioselective synthesis of various D-amino acids by a multi-enzyme system. *J. Biotechnol.* **8**: 243–248.
27. Galkin, A., Kulakova, L., Tishkov, V., Esaki, N., and Soda, K. 1995. Cloning of formate dehydrogenase gene from a methanol-utilizing bacterium *Mycobacterium vaccae* N10. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **44**: 479–483.
28. Yagasaki, M., A. Ozaki, Y. Hashimoto. 1993. *Biosci. Biotech. Biochem.* **57**: 1499.
29. Yagasaki, M., K. Iwata, I. Ishino, M. Azuma, A. Ozaki. 1995. **59**: 610.
30. Yagasaki, M., A. Ozaki, M. Azuma, Y. Hashimoto, S. Ishino. 1995. Japanese Patent Application 95-289275.
31. Yagasaki, M., M. Azuma, S. Ishino, A. Ozaki. 1995. *J. Ferment. Bioeng.* **79**: 70.