

미생물이 생산하는 medium-chain-length polyhydroxyalkanoates의 다양성 및 응용

(Diversity and applications of bacterial medium-chain-length polyhydroxyalkanoates)

김도영 · 이영하*

충남대학교 자연과학대학 미생물학과

서론

다양한 종류의 박테리아들이 세포 내에 저장물질로서 생합성하는 polyhydroxyalkanoate (PHA)는 최근 생분해성 (biodegradability)과 생체적합성 (biocompatibility)이 매우 뛰어난 환경친화적 고분자물질로서 많은 주목을 받고 있다. PHA는 과잉의 탄소원이 존재할 때 미생물의 생장을 위한 질소 (N), 인 (P), 그리고 황 (S) 등의 필수영양소의 결핍 또는 저 용존산소농도와 같은 불균형 영양조건 하에서 생합성이 크게 증가하며, 지금까지 약 90 속 이상의 그람양성 및 그람음성 박테리아들이 이를 생합성하는 것으로 보고되어 있다 (67, 71).

PHA를 구성하는 단위체 (monomer units)는 (*R*)-hydroxyalkanoic acids로, 1995년까지 약 90종류 이상의 서로 다른 단위체가 다양한 박테리아에 의해 PHA의 구성성분으로 도입됨이 보고된 바 있다 (81). 하지만 최근 5년간 약 30여종의 단위체가 PHA의 구성성분으로 새롭게 도입되어 지금은 120여종류 이상의 (*R*)-hydroxyalkanoic acids가 존재한다 (Fig. 1). PHA는 단위체인 (*R*)-hydroxyalkanoic acids의 탄소사슬길이 (carbon-chain-length)에 따라 short-chain-length PHA (PHA_{SCL}; C₃-C₅)와 medium-chain-length PHA (PHA_{MCL}; C₆-C₁₄)로 나뉘어진다 (67, 89).

PHA_{SCL}는 *Bacillus* spp. (24, 67), *Alcaligenes* spp. (18, 29, 38, 75), *Azotobacter* spp. (39, 69), 및 photosynthetic bacteria (12, 27, 66) 등에 의해 glucose, butyrate, valerate 등의 탄소원으로부터 생합성되어지며, poly(3-hydroxybutyrate) (PHB)와 poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) [poly(3HB-co-3HV)]가 대표적인 PHA_{SCL}로 알려져 있다. 특히 0-24 mol%의 3HV를 함유하는 poly(3HB-co-3HV)의 경우 1976년에 영국의 ICI (Imperial Chemical Industries)사에서 처음으로 *Ralstonia eutropha* (이전 학명 *Alcaligenes eutrophus*)를 이용하여 상업적으로 대량 생산을 시작하였으며, 1996년 4월 이후부터 현재까지는 미국의 Monsanto 사에 의해 Biopol이란 상품명으로 생산되고 있다 (13). 최근 일부의 세균이 단일기질로부터 poly(3HB-co-3HV) 공중합체를 생산할 수 있음이 밝혀진 바 있지만 (69, 75), 대부분의 미생물의 경우 공중합체 합성을 위해서는 3HV

단위체의 전구물질로서 특정 보조기질 (propionate 또는 valerate)의 공급을 필요로 한다 (14, 70).

PHA_{SCL}와는 달리 PHA_{MCL}의 경우 주로 rRNA homology group I에 포함되는 pseudomonads에 의해 alkanes, alkenes, alkanolic acids 및 다양한 동·식물성 유지로부터 생합성되어지며, 특히 *Pseudomonas oleovorans*와 *P. putida*가 대표적인 PHA_{MCL} 생산균주로서 널리 사용되고 있다 (13, 67, 88). PHA_{MCL}는 통상 3-hydroxyhexanoate (3HH), 3-hydroxyheptanoate (3HHp), 3-hydroxyoctanoate (3HO), 3-hydroxynonanoate (3HN)등과 같이 탄소수가 6 이상의 단위체를 구성단위로 하는 PHAs로서 통상 2가지 이상의 단위체를 포함하는 공중합체로 생합성된다. 또한, PHA_{MCL} 생합성 미생물들은 functional group을 포함하고 있는 다양한 alkanolic acids로부터 단위체의 곁가지에 특정 functional group을 가지는 PHA_{MCL}를 생합성하기도 한다 (1, 3, 4, 18, 21, 31, 33, 40, 41, 47-54, 65, 79, 82).

이와 같이 자연계에 존재하는 대부분의 미생물들은 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL} 중 어느 하나를 그들의 세포 내 저장물질로서 합성하는 것이 일반적인 특성이다. 그러나 최근에는 예외적으로 일부의 *Pseudomonas* spp. (68, 80) 및 *Aeromonas* spp. (22, 58)와 광합성 세균 (28, 66) 등에 의해 poly(3HB-co-3HH)나 poly(3HB-co-3HV-co-3HHp)와 같이 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL}의 구성 단위체를 모두 포함하는 새로운 형태의 PHA가 생합성될 수 있음이 보고되고 있다.

PHA_{MCL}의 생합성

Pseudomonas spp.에서 PHA_{MCL}의 단위체 생합성에 관련된 주요 대사경로는 3가지가 알려져 있다 (Fig. 2). 첫째는 acyl-CoA에 acetyl-CoA가 붙어서 좀더 탄소사슬길이 길어진 전구물질을 생성하는 chain elongation 반응이며, 둘째는 fatty acids의 β -oxidation 과정이고, 셋째는 포도당, gluconate 등의 탄수화물 탄소원으로부터 전구물질을 만드는 *de novo* fatty acid biosynthesis 과정이다. 이러한 생합성 경로를 통하여 만들어진 최종 전구물질인 (*R*)-3-hydroxyacyl-CoA는 PHA synthase (PHA polymerase)가 매개하는 중합반응을 통하여 PHA_{MCL}의 생합성에 이용된다

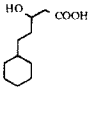
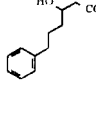
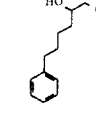
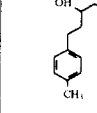
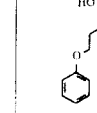
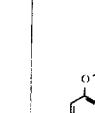
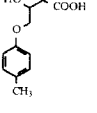
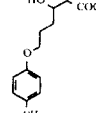
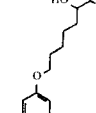
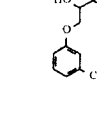
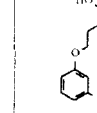
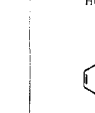
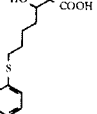
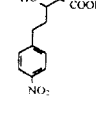
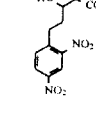
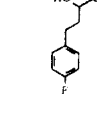
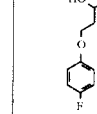
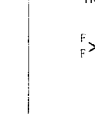
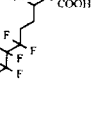
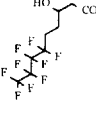
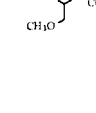
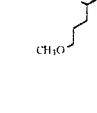
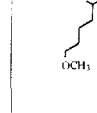
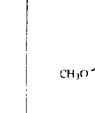
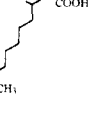
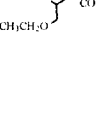
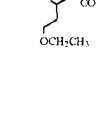
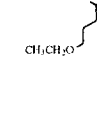
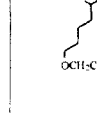
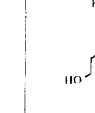
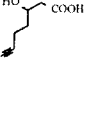
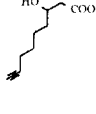

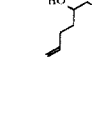
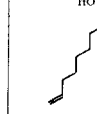
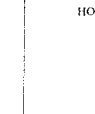
1) 	2) 	3) 	4) 	5) 	6) 
3-hydroxy-5-cyclohexylvaleric acid	3-hydroxy-6-phenylhexanoic acid	3-hydroxy-7-phenylheptanoic acid	3-hydroxy-5-p-methylphenylvaleric acid	3-hydroxy-6-phenoxyhexanoic acid	3-hydroxy-9-phenoxy-nonanoic acid
7) 	8) 	9) 	10) 	11) 	12) 
3-hydroxy-4-p-methylphenoxybutyric acid	3-hydroxy-6-p-methylphenoxyhexanoic acid	3-hydroxy-8-p-methylphenoxyoctanoic acid	3-hydroxy-4-m-methylphenoxybutyric acid	3-hydroxy-6-m-methylphenoxyhexanoic acid	3-hydroxy-5-thiophenoxyvaleric acid
13) 	14) 	15) 	16) 	17) 	18) 
3-hydroxy-7-thiophenoxyheptanoic acid	3-hydroxy-5-(4'-nitro)phenylvaleric acid	3-hydroxy-5-(2',4'-nitro)phenylvaleric acid	3-hydroxy-5-p-fluorophenylvaleric acid	3-hydroxy-5-fluorophenoxyvaleric acid	3-hydroxy-6,6,6-fluorohexanoic acid
19) 	20) 	21) 	22) 	23) 	24) 
3-hydroxy-6,6,7,7,8,8,8-fluorooctanoic acid	3-hydroxy-6,6,7,7,8,8,9,9,9-fluorononanoic acid	3-hydroxy-4-methoxybutyric acid	3-hydroxy-6-methoxyhexanoic acid	3-hydroxy-7-methoxyheptanoic acid	3-hydroxy-8-methoxyoctanoic acid
25) 	26) 	27) 	28) 	29) 	30) 
3-hydroxy-9-methoxynonanoic acid	3-hydroxy-4-ethoxybutyric acid	3-hydroxy-5-ethoxyvaleric acid	3-hydroxy-6-ethoxyhexanoic acid	3-hydroxy-7-ethoxyheptanoic acid	3,8-dihydroxyoctanoic acid
31) 	32) 	33) 	34) 	35) 	36) 
3-hydroxy-6-heptynoic acid	3-hydroxy-8-nonynoic acid	3-hydroxy-10-undecynoic acid	3-hydroxy-6-heptenoic acid	3-hydroxy-10-undecenoic acid	3-hydroxy-2,2-dimethylpropionic acid

Fig. 1. New PHA monomer units which have been reported since 1996. The publication for each constituent is as follows. #1, [3]; #2-#3, [18]; #4, [30]; #5-#6, [51]; #7-#11, [52]; #12-#13, [81]; #14-#15, [4]; #16-#17, [32]; #18-#20, [47]; #21-#29, [53]; #30, [40]; #31, unpublished data; #32-#33, [39]; #34-#35, [50]; #36, [26].

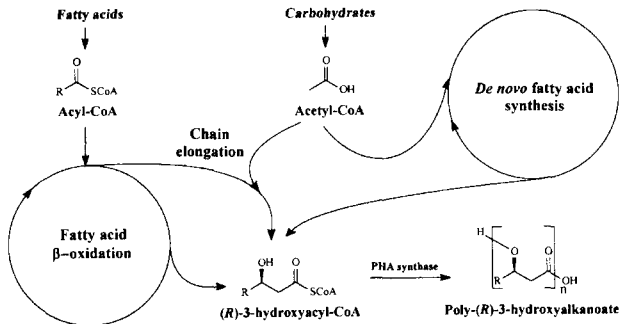


Fig. 2. Metabolic pathways related to PHA_{MCL} synthesis in *Pseudomonas* spp..

(67, 89). 따라서 이들 균주들이 특정의 단일탄소원으로부터 생합성하는 PHA_{MCL}에는 각기 탄소수가 2개씩 차이가 나는 2 개 이상의 단위체를 포함하게 된다. 예를 들어, 탄소수가 8개인 octanoic acid를 탄소원으로 *P. oleovorans*가 생합성하는 PHA_{MCL}에는 주 단위체인 3HO 이외에도 3HH 및 3-hydroxydecanoate 단위체가 포함된다.

*Pseudomonads*에 의한 PHA_{MCL}의 생합성 양상은 균주 간에 다소의 차이를 보인다. 즉, *P. oleovorans*나 *P. putida*가 alkanolic acids로부터 성장조건과 관계없이 항상 일정한 분자량과 조성을 갖는 medium-chain-length 3-hydroxyalkanoates로만 구성된 random copolymer를 생산하는 반면, *Pseudomonas* sp. 61-3 (68)과 *Pseudomonas* sp. HJ-2 (15) 및 일부의 *Pseudomonas* spp. (80)의 경우 sugars나 alkanolic acids로부터 short-chain-length 및 medium-chain-length 단위체를 모두 함유하는 PHA를 생합성할 수 있는데, 두 가지 종류의 단위체가 공중합체를 이루는 경우가 있는 반면에 균주에 따라서는 독립적인 PHA_{SCL} 또는 PHA_{MCL}가 물리적으로 서로 섞여 있는 혼합물 형태의 PHA를 생산하기도 한다. 이렇게 PHA_{MCL}의 생합성 양상이 *Pseudomonas* 균주 간에 서로 차이가 나는 것은 PHA 생합성에 관련된 다양한 전구물질의 합성 능력 및 (R)-hydroxyalkanoates의 중합반응에 관여하는 각 균주의 PHA synthase의 기질 특이성이 매우 다르기 때문인 것으로 생각되어지고 있다 (67).

PHA_{MCL}의 성질

PHA는 합성플라스틱과는 달리 재생자원을 발효기질로 사용하여 생산될 뿐만 아니라, 생분해성 이외에도 생체친화성, 압전성, 자외선에 대한 안전성이 뛰어난 생물열화성 플라스틱이다 (71). 이러한 성질들로 인하여 PHA를 합성플라스틱을 대체할 수 있는 범용소재로 뿐만 아니라 식품, 정밀화학, 의약 등 다양한 분야에 적용하기 위한 연구가 꾸준히 이루어지고 있다. 일반적으로 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL}는 물성 면에서 매우 다른 성질을 보인다 (Table 1). 즉, PHA_{SCL}의 대표적 고분자인 PHB의 경우 상업적으로 많이 사용되고 있는 polypropylene과 매우 유사하게도 약 178°C의 녹는점 (melting temperature)과 40 MPa의

Table 1. Physical and thermal properties of various PHAs and polypropylene (67, 71)

Property	PHB	PHBV ^a	PHO ^b	Polypropylene
Melting transition temperature (°C)	178	145	60	176
Glass transition temperature (°C)	2	-1	-35	-10
Crystallinity (%)	70	56	30	60
Tensile strength (MPa)	40	32	10	38
Elongation to break (%)	6	50	300	400

^aPoly(80 mol% 3-hydroxybutyrate-co-20 mol% 3-hydroxyvalerate).

^bPoly(11 mol% 3-hydroxyhexanoate-co-89 mol% 3-hydroxyoctanoate).

인장강도 (tensile strength) 및 70%의 높은 결정화도 (crystallinity)를 가져 상온에서도 딱딱하고 잘 부러지는 성질을 가지는 반면에 대표적인 PHA_{MCL}인 poly(3-hydroxyoctanoate) (PHO)의 경우 PHB보다 훨씬 작은 10 MPa의 인장강도와 300%의 연성 (extension to break), 그리고 약 30%의 비교적 작은 결정화도를 가져 탄성체 (elastomer)로서의 성질을 가진다 (67, 71). 이처럼 두 고분자간의 극명한 물성 차이로 인하여 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL}는 각기 서로 다른 용도의 소재로 활용될 수 있을 것으로 보인다.

한편, 최근에는 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL} 뿐만 아니라 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL} 단위체를 모두 포함하는 PHA에 대한 관심이 매우 고조되고 있는데, 이러한 고분자는 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL} 각각으로부터 기대할 수 없는 보다 새로운 물성을 가질 수 있기 때문이다. 실제로 Matsusaki 등 (68)의 보고에 의하면 94 mol%의 3HB와 6 mol%의 medium-chain-length 3-hydroxyalkanoates로 구성된 공중합체 film의 경우 133°C의 녹는점과 17 MPa의 인장강도 및 680%의 연성을 가져 low density polyethylene과 상당히 유사한 우수한 물성을 가지는 것으로 알려져 있다.

Functional PHA_{MCL}

Functional PHA는 단위체 결가지에 특정 functional group을 함유하는 PHA를 지칭하는 것으로서 이들은 functional group을 포함하는 기질로부터 직접적으로 생산되거나, octanoic acid 또는 nonanoic acid와 같이 *Pseudomonas* spp.에서 PHA_{MCL}의 합성을 잘 지지하는 탄소원이 보조기질로 함께 첨가될 때 동조대사 (cometabolism)를 통하여 생합성될 수도 있다. Functional group을 포함하는 탄소원을 이용할 수 있는지의 여부는 균주에 따라 많은 차이를 나타내는데 Table 2는 Lenz 등 (64)에 의해 기술된 방법에 따라 다양한 functional group을 갖는 탄소원들을 *P. oleovorans*와 *P. putida*의 성장 및 PHA 생합성 양상에 따라 3가지 group으로 분류한 것이다. 먼저 group A에 포함된 탄소원은 해당 균주의 성장 및 PHA의 생합성을 모두 지지하는

Table 2. Classification of carbon substrates containing functional groups based on their ability to support growth and PHA synthesis by *P. oleovorans* and *P. putida*

Group	Carbon substrates used in <i>P. oleovorans</i>	Carbon substrates used in <i>P. putida</i>
A	7-methyloctanoic acid, 5-phenylvaleric acid, 6-phenylhexanoic acid, 7-phenylheptanoic acid, 9-phenylnonanoic acid, 11-phenylundecanoic acid, 9- <i>para</i> -tolylnonanoic acid, 4-cyclohexylbutyric acid, 5-cyclohexylvaleric acid, 6-octenoic acid, 7-octenoic acid, oleic acid, γ -linolenic acid, 10-undecenoic acid, 10-undecynoic acid, methyl octanoate, methyl heptanoate, methyl decanoate, ethyl heptanoate, propyl heptanoate, heptene, octene, decene, 11-methoxyundecanoic acid, 11-ethoxyundecanoic acid, 8- <i>para</i> -methylphenoxyoctanoic acid, 6-phenoxyhexanoic acid, 8-phenoxyoctanoic acid, 11-phenoxyundecanoic acid, 9- <i>para</i> -tolylnonanoic acid, 9- <i>para</i> -styrylnonanoic acid	10-undecenoic acid, 10-undecynoic acid, 6-phenylhexanoic acid, 7-phenylheptanoic acid, 9-phenylnonanoic acid, 11-phenylundecanoic acid, 6- <i>para</i> -methylphenoxyhexanoic acid, 8- <i>para</i> -methylphenoxyoctanoic acid, 8- <i>meta</i> -methylphenoxyoctanoic acid, 8- <i>ortho</i> -methylphenoxyoctanoic acid, 11-thiophenoxyundecanoic acid, 11-phenoxyundecanoic acid
B	6-bromohexanoic acid, 8-bromooctanoic acid, 11-bromoundecanoic acid, 5-methyloctanoic acid, 6-methyloctanoic acid, 11-cyanoundecanoic acid, 8-hydroxyoctanoic acid, 12-hydroxydodecanoic acid, 1,12-dodecanediol, 6-methoxyhexanoic acid, 6-ethoxyhexanoic acid, 8-methoxyoctanoic acid, 8-methoxyethoxyoctanoic acid, 8- <i>para</i> -methoxyphenoxyoctanoic acid, 8- <i>para</i> -ethoxyphenoxyoctanoic acid	8-bromooctanoic acid, 11-bromoundecanoic acid, 5-chlorovaleric acid, 8-methoxyoctanoic acid, 11-methoxyundecanoic acid, 11-ethoxyundecanoic acid, 11-cyanoundecanoic acid, 3-phenylpropionic acid, 5-phenylvaleric acid, 16-hydroxyhexadecanoic acid, 8-methoxyethoxyoctanoic acid, 8- <i>para</i> -methoxyphenoxyoctanoic acid, 8- <i>para</i> -ethoxyphenoxyoctanoic acid, 11-(4-methylthiophenoxy)undecanoic acid, 5-thiophenoxypentanoic acid
C	4-phenylbutyric acid, 6-aminohexanoic acid, 8-aminooctanoic acid, 11-aminoundecanoic acid, 1,6-hexanediol, 1,8-octanediol, octanethiol, octanedioic acid, 4-octylbenzenesulfonic acid, 4-heptylbenzoic acid, 6-heptynoic acid, 8- <i>para</i> -cyanophenoxyoctanoic acid, 11- <i>para</i> -methylphenoxyundecanoic acid, nonanethiol, nonylphenol	6-bromohexanoic acid, 6-methoxyhexanoic acid, 6-ethoxyhexanoic acid, 8-hydroxyoctanoic acid, 6-aminohexanoic acid, 11-aminoundecanoic acid, 4-pentenoic acid, 6-heptynoic acid, nonanethiol, hexanedioic acid to decanedioic acid, dodecanedioic acid, 4-cyclohexylbutyric acid, 6-phenoxyhexanoic acid, nonylphenol, 8- <i>para</i> -cyanophenoxyoctanoic acid, 11- <i>para</i> -methylphenoxyundecanoic acid

기질이며, group B는 균주의 생장은 지지하지만 직접적으로 PHA의 생합성은 지지하지 못하는 탄소원이고, 마지막 group C는 균주의 생장 및 PHA의 생합성을 모두 지지하지 못하는 탄소원을 의미한다. 위의 3가지 group 중 group B와 group C에 속하는 일부의 탄소원들은 *P. oleovorans* 와 *P. putida*에서 cometabolism을 통하여 functional PHA_{MCL}의 생합성을 지지할 수 있음이 밝혀지고 있다 (41, 65).

지금까지 halogens (1, 21, 50), carbon-carbon double bonds (51), carbon-carbon triple bonds (40), cyclohexyl (3), phenyl

(18, 49), nitrophenyl (4), methylphenyl (31), phenoxy (52, 79), methylphenoxy (53), thiophenoxy (82), fluorophenoxy (33), cyanophenoxy (47) 및 nitrophenoxy group (47) 등의 다양한 functional group을 함유하는 PHA_{MCL}가 관련된 functional group을 가지는 탄소원들로부터 직접적으로 또는 cometabolism을 통하여 *P. oleovorans*와 *P. putida*에 의해 합성되었다. 그러나 이러한 고분자를 합성하는 두 미생물간에는 생장 및 functional PHA_{MCL}의 생합성을 위한 탄소원의 이용 능력 면에서 많은 차이가 있음이 최근 저자들의 실험실에서 확인된 바 있다 (41). 즉,

Table 3. Compositions of PHAs containing unsaturated groups synthesized by *P. putida* from various molar mixtures of either 10-UND(=) or 10-UND(≡) with NA (40, 41)

Conc. of carbon sources (mM)			Relative amount ^a of repeating units in PHAs						
NA	10-UND(=)	10-UND(≡)	3HHp	3HN	3HHp(=)	3HN(=)	3HUD(=)	3HN(≡)	3HUD(≡)
10	-		25	75					
7.5	2.5		18	55	3	17	7		
5	5		12	35	5	35	12		
2.5	7.5		5	16	6	55	18		
	10				10	60	24		
7.5		2.5	23	57				14	6
5		5	16	43				29	12
2.5		7.5	10	25				47	18
		10						72	28

^aGC area%.

NA, nonanoic acid; 10-UND(=), 10-undecenoic acid; 10-UND(≡), 10-undecynoic acid.

3HHp, 3-hydroxyheptanoate; 3HN, 3-hydroxynonanoate; 3HHp(=), 3-hydroxyheptenoate;

3HN(=), 3-hydroxynonenoate; 3HUD(=), 3-hydroxyundecenoate;

3HN(≡), 3-hydroxynonynoate; 3HUD(≡), 3-hydroxyundecynoate.

*P. oleovorans*의 성장과 functional PHA_{MCL}의 생합성을 잘 지지하는 탄소원이라 할지라도 *P. putida*의 성장과 PHA의 생합성을 지지하는 것은 아니며, 반대로 *P. putida*의 성장 및 PHA 생합성을 잘 지지하는 탄소원도 *P. oleovorans*에게는 성장과 PHA 생합성에 좋지 않은 탄소원이 되기도 한다. 한편, 상대적으로 functional group을 함유하는 PHA_{SCL}에 관한 보고는 지금까지 거의 없었으며 carbon-carbon double bonds를 functional group으로 가지는 PHA_{SCL}의 생합성만이 *Burkholderia* sp. (84)와 *Rhodospirillum rubrum* (64)에서 보고된 바 있다.

물성면에서 functional PHA는 일반적인 alkanolic acids로부터 생산된 PHA_{MCL}와는 달리 그 자체로도 다양한 물리화학적 성질을 가진다. 즉, carbon-carbon triple bonds와 carbon-carbon double bonds를 functional group으로 함유하는 고분자의 경우 점착성이 매우 뛰어나며 (41), hydroxyl group (57) 및 methoxy와 ethoxy group (54)을 갖는 고분자는 매우 향상된 친수성을 갖는다. 더욱이 이러한 고분자들의 점착성 및 친수성은 PHA의 생합성을 위해 공급해주는 두 탄소원의 mol%를 상호 조절해 주는 방법에 의한 고분자의 조성 변화를 통하여 증가 또는 감소시킬 수 있기 때문에 더욱 관심의 대상이 되고 있다. Table 3은 unsaturated group을 함유하는 functional PHA_{MCL}의 생합성을 위해 사용한 서로 다른 두 탄소원의 농도를 조절함으로써 합성되는 고분자의 조성을 조절할 수 있음을 보여준다.

그러나 이러한 미생물을 이용하여 직접 생산할 수 있는 PHA_{MCL}의 종류는 지금껏 제한되어 있는 것으로 생각되어지고 있다. 따라서 최근에는 bromine, epoxy, 그리고 unsaturated groups과 같이 치환성이 좋은 functional group을 함유하는 PHA_{MCL}를 대상으로 electron beam irradiation (19), gamma irradiation (6, 7) 및 diamine (56) 등에 의한 가교 (crosslinking)나 다른

functional group의 치환 (8, 16, 57) 같은 다양한 화학적 변형 (chemical modification)을 통하여 좀 더 쉽게 원하는 물성을 가지는 고분자를 합성하려는 시도들이 행해지고 있다.

PHA_{MCL}의 생분해

PHA의 가장 중요한 특징 중의 하나는 이들이 자연환경 내에서 쉽게 분해될 수 있다는 점이다. 지금까지 PHA_{SCL}를 분해하는 다양한 종류의 곰팡이 및 방선균과 박테리아들이 여러 생태계로부터 순수 분리되고, 그들의 extracellular PHA_{SCL} depolymerase의 특성 및 유전자에 관한 연구가 수행되어졌다. 그러나 이들 PHA_{SCL} depolymerase는 PHA_{SCL}에만 특이적으로 작용할 뿐 PHA_{MCL}에는 작용하지 못하는 것으로 보고됨으로써 (25, 35, 74), 분해 과정에 있어서 PHA_{SCL}와 PHA_{MCL}의 차별성이 어떠한 기작에 의하여 이루어지는지 많은 의문이 제시되고 있다. 최근 Jendrossek (35)은 1998년에 보고한 논문에서 PHA의 생분해에 관여하는 PHA depolymerases의 공통적인 특징을 다음과 제시하였다. 첫째, 대부분의 PHA depolymerases은 40-50 kDa 이하의 비교적 작은 분자량을 가진다. 둘째, DEAE와 같은 anion exchanger에는 친화성이 없지만 hydrophobic materials에는 매우 높은 친화성을 보인다. 셋째, 최적 pH는 7.5-9.8의 alkali 범위에 있으며, diisopropylfluorophosphate와 같은 serine hydrolase inhibitor에 의해 저해 받는 특성을 가진다.

한편, PHA_{SCL}와는 달리 상대적으로 PHA_{MCL} 및 functional group을 함유하는 PHA의 생분해에 관한 보고 (25, 73, 74)는 매우 미진한 형편이다. 또한 이와 관련된 extracellular PHA_{MCL} depolymerase의 경우 지금까지 *P. fluorescens* GK13 (76), *Pseudomonas* sp. RY-1 (46) 및 *Xanthomonas* sp. JS02 (45)로부터만 분리 정제되어 그 효소학적 성질이 밝혀졌을 뿐이어서 향후 보다 많은

균주로부터의 연구가 필요한 실정이다. 특히 생체조직 내에서의 PHA_{MCL}의 분해정도 및 그 양상에 대해서는 지금까지 보고된 것이 전무한 실정이다. 따라서 앞으로 PHA_{MCL}를 일반적인 용도뿐만 아니라 약물전달체계 (drug delivery system)나 의료용 신소재와 같은 고부가가치산업 분야로의 응용을 위해서는 이들의 자연계 및 생체 내에서의 생분해와 생체적합성에 관한 연구가 새로운 물성을 갖는 고분자의 개발과 더불어 병행되어야만 한다.

최근에 본 실험실에서는 다양한 PHA_{MCL}에 대해 분해능을 보이는 *P. alcaligenes* LB19 균주를 토양으로부터 분리하였으며, 이 균주가 생산하는 extracellular PHA_{MCL} depolymerase 대상으로 alkanolic acids로부터 *P. oleovorans*와 *P. putida*에 의해 생합성된 다양한 PHA_{MCL}의 생분해에 관한 실험을 수행하였다 (42). 그 결과 각각 octanoic acid와 decanoic acid로부터 생합성된 짝수의 탄소사슬길이를 갖는 단위체들로 구성된 PHO나 poly(3-hydroxydecanoate)의 경우 각각 heptanoic acid와 nonanoic acid로부터 생합성된 홀수의 탄소사슬길이를 갖는 단위체들로 구성된 poly(3-hydroxyheptanoate)나 poly(3-hydroxynonanoate) 보다 훨씬 분해성이 뛰어난 것으로 밝혀졌다. 또한, 보다 더 긴 탄소사슬길이의 단위체들로 구성된 고분자일수록 짧은 탄소사슬길이의 단위체들로 구성된 고분자보다 분해가 더 잘 이루어졌다.

한편, 곁사슬에 phenyl 또는 phenoxy group 같은 aromatic groups를 함유하는 functional PHA_{MCL}의 경우 phenyl group을 갖는 고분자는 분해가 잘 되는 반면 phenoxy group을 갖는 고분자는 분해가 잘 되지 않는 생분해 양상을 보였으며 (45), carbon-carbon double bonds를 함유하는 PHA_{MCL}의 경우 결정성 (crystallinity)이 작은 고분자일수록 분해가 더 잘 되는 특성을 보였다 (73). 따라서, PHA_{MCL}의 생분해는 고분자의 미세구조적 차이 및 결정화도에 의해 큰 영향을 받는 것으로 생각되어 진다.

PHA_{MCL} 생산의 경제성

지난 몇 년간 *P. oleovorans*와 *P. putida*를 이용하여 PHA_{MCL}의 대량 생산을 위한 다양한 유가식 발효 공정 및 기술이 개발되고 시도되어 왔다 (34, 37, 43, 59, 61, 63). Huijberts 등 (33)의 보고에 의하면 oleic acid를 이용한 *P. putida*의 배양에 의해 26 h 만에 45%의 PHA 축적율로 92 g/L의 건조 균체를 생산할 수 있었으며, 이때의 PHA 생산성 (productivity)은 시간당 1.59 g/L였다. 반면에 Lee 등 (61)은 역시 oleic acid를 이용한 *P. putida*의 고농도 배양을 통하여 36 h 동안 36%의 PHA 축적율로 168 g/L의 건조 균체를 얻은 바 있으며, 건조 균체 1 L당 생산된 PHA의 양 및 생산성은 각각 60.7 g/L와 시간당 1.79 g/L였다. 그리고 보다 최근의 연구에서 Lee 등 (63)은 배양액 내 인 (phosphorus)의 농도를 조절함으로써 건조 균체 및 PHA 농도와 축적율을 각각 141 g/L과 72.6 g/L 그리고 51.4 wt%까지 증가시킬 수 있음을 보고하였다. 하지만

PHA_{MCL}의 생산을 위한 여러 유가식 발효 공정 및 기술이 이전보다 향상되었다 하더라도 현재 *P. oleovorans*와 *P. putida*를 이용한 PHA_{MCL}의 생산은 그 생산성 면에서 *A. latus*나 recombinant *E. coli*를 이용한 PHB의 생산에 크게 미치지 못하고 있다. 즉, PHB의 경우 *A. latus*나 recombinant *E. coli*를 이용하면 유가식 배양에 의해 88% 이상의 높은 PHB 축적율과 시간당 5 g/L의 생산성으로 PHB를 생산할 수 있는 것으로 알려져 있다 (59).

PHB의 경우 지난 수년간 kg당 15-30 US\$의 가격으로 시판되어왔다. 그러나 이들을 상업화하기 위해서는 적어도 5 US\$ 이하의 가격에서 시장이 형성되어야만 하며, 현실적으로 기존의 화학합성 플라스틱들에 대해 경쟁력을 가지기 위해서는 2 US\$ 이하에서 가격이 형성되어야만 할 것으로 판단되고 있다 (60, 89). 한편, 현재 PHA_{MCL}의 경우도 최대 kg당 5 US\$ 선까지 생산이 가능할 것으로 판단되고는 있으나 대량으로 상업화를 위해서는 더 생산 단가를 낮추어야만 할 것이다 (30). 따라서, 이러한 일을 수행하기 위해서는 먼저 PHA의 생합성능이 우수한 균주의 개발, 발효공정의 단순화, 값싼 대체 탄소원의 개발 및 정제과정의 단순화와 효율을 극대화시키는 것이 필요하다 (14).

현재 PHA의 생산단가에 가장 큰 영향을 미치는 요인 중의 하나는 탄소원으로 PHA_{MCL}의 생합성을 위해 사용하고 있는 fatty acids의 경우 원료 자체의 가격이 비싸 PHA_{MCL}의 대량 생산에 현실적으로 이용할 수 없는 단점이 있다. 그래서 최근에 PHA_{MCL}의 생산비용을 낮추기 위해 다양한 동·식물성 유지류 fatty acids의 대체 탄소원으로 이용하려는 노력들이 시도되고는 있지만 아직까지 주목할만한 성과를 얻지는 못하고 있다 (5, 17, 32, 78, 83). 하지만 앞으로 PHA_{MCL}의 대량 생산 및 상업화를 위해서는 동·식물성 유지나 식품산업의 부산물인 폐유와 같은 값싼 탄소원을 기질로 이용하는 것이 반드시 필요할 것으로 생각된다.

PHA_{MCL}의 활용 및 전망

PHA가 가지고 있는 여러 가지 장점에도 불구하고 이들 고분자의 활용이 극히 제한받고 있는 가장 중요한 이유는 합성고분자에 비하여 이들의 생산비가 높다는 점이다 (13). 이러한 문제점을 극복하기 위한 수단 중의 하나는 이 고분자를 의료용 재료와 같이 고부가가치 분야의 소재로 활용하는 것이다. 아직까지 의료용으로 사용되고 있는 고분자 재료 중에서 열 가소성, 생체적합성, 생체 분해성, 생산성, 가공의 편리성이 모두 우수한 물질은 많지 않다. 특히 생체 분해성을 가진 합성 열가소성 고분자로는 현재 poly(α -hydroxyalkanoate)인 polylactic acid (PLA)와 polyglycolic acid (PGA) 및 이들의 공중합체가 거의 시장을 독점하고 있다.

분해성 생체/의료용 재료는 효소에 의하여 분해되는 종류와 가수분해에 의하여 분해되는 두 가지 종류를 들 수 있다. 효소에 의하여 분해되는 고분자는 폴리펩타이드, 다당류 및 PHA가

가장 대표적이며, 가수분해에 의하여 분해되는 고분자는 PGA, PLA를 비롯하여 poly(ester-ether), poly(3-malic acid), poly(amide-ester) 등 다양한 종류가 있다 (2). 효소에 의하여 분해되는 고분자는 항체반응을 일으킬 가능성이 있어서 효소와 관련 없이 분해되는 고분자가 더 선호되는 것이 사실이지만 실제 적용하여 생체 적합성에 대한 정보를 얻어내지 않고서는 단정할 수 없다. PGA와 PLA는 매우 오랫동안 연구되어 온 고분자로 체내에서 수 주가 지나면 거의 분해되는 것으로 알려져 있으나 (2), 결정성과 제품의 형태에 따라 분해가 매우 느려지기도 하는 것으로 알려져 있다. PGA와 PLA를 이용한 제품 개발에 매우 긴 시간이 걸린 것은 이들의 물성이 우수하지 못한 편이기 때문이다. 예를 들어서, PGA는 매우 취성이 높아 이를 이용한 수술실은 지름이 0.1 μm 인 실로 짜서 제조한다. PGA와 PLA가 체내에서 분해되고 눈에 띄만한 문제를 일으키지는 않는 것으로 알려져 있으나, 실제 체내에서 완전히 분해되는지 여부와 완전히 분해되지 않고 잔존하는 부스러기가 어떠한 문제를 일으키는 지에 대해서는 잘 이해하지 못하고 있는 실정이다 (86).

PHA는 미생물의 체내에 저장되고 미생물에 의하여 분해되는 생분해성과 생체적합성이 우수한 고분자이므로 PHA의 의료용 적용 가능성은 그동안 꾸준히 제기되어 왔다. 지난 10여 년간 PHA는 packaging materials (10, 11, 87) 및 drug carrier (23, 36, 44, 55, 72, 77)와 medical temporary implants (88) 등의 생산에 이용하기 위한 신소재로서 그의 사용 및 응용가능성이 모색되고 타진되었다. 특히, PHA_{MCL}의 경우 결정성 및 유연성과 점착성이 PHA_{SCL} 보다 매우 뛰어나 adhesive (9)와 paints의 coating materials (85) 및 다양한 생체조직 (artery, nerve axons, heart valves etc.)의 재생을 위한 scaffolds와 같은 medical temporary implants (87)의 생산을 위한 소재로서 그것의 응용 가능성이 더욱 높은 것으로 보고되고 있으나, 아직까지 PHA_{SCL}에 비하여 연구의 폭과 수준이 매우 미미한 실정이다. 특히 PHA_{MCL}의 생체내 분해성에 관한 연구가 거의 이루어지지 못하여 이 고분자가 생체 내에서 얼마만큼 효율적으로 분해되는 지를 정확히 판단할 수 없는 상황이다.

또한 미생물에 의하여 생합성된 PHA가 가지고 있는 가장 주목할만한 특징 중의 하나는 이들 고분자의 분해 결과 화학적으로 합성하기 어려운 구조의 저분자량 화합물을 얻을 수 있다는 점이다. 즉, 이들의 분해로 생성되는 3-hydroxyalkanoic acid는 여러 가지 화학반응에 이용될 수 있는 -OH와 -COOH를 가지고 있을 뿐만 아니라 3번 위치에 chiral center를 가지고 있고, 모든 chiral center가 R configuration을 가지고 있어 이러한 화합물은 입체 선택적 화합물 합성을 위한 어떠한 연구 또는 antibiotics, vitamins, aromatics 및 pheromones과 같은 새로운 물성을 갖는 신물질의 합성 시 이들의 전구물질로도 사용할 수 있을 것으로 기대되고 있다 (62). 더욱이 이들 여러 가지 3-hydroxyalkanoic acid의 말단 혹은 중간에 이중 결합, 삼중 결합, 에스터, 할로겐 (Br, Cl, F) 등이 치환되어 있을 경우 이들

을 사용하여 제조한 화합물에 다른 반응을 일으켜 새로운 활성기를 투입하는 것도 가능하다. 이와 같이 순수한 한가지 configuration의 광학 활성을 가지고 있을 뿐만 아니라 반응성이 높은 다중 결합 (이중 결합 및 삼중 결합), 할로겐 등을 함유한 화합물을 화학적으로 제조하는 것은 매우 어려운 일이기 때문에 각종 PHAs 분해산물의 응용가치는 매우 높을 것으로 기대된다.

지금까지 PHA_{MCL}의 의료용으로서의 개발에 관한 연구가 활발하지 못한 것은 기존 재료들의 성질이 우수하여 새로운 의료용 물질에 대한 필요성이 없었기 때문이라기 보다는, 기존 PHA_{MCL}의 성질이 의료용품으로 적용하기에 적절하지 못했거나 연구에 충분한 양의 시료를 확보하기 어려웠던 것이 더 중요한 이유인 것으로 판단된다. 따라서 향후 보다 우수한 물성과 새로운 구조를 갖는 PHA_{MCL}의 개발과 아울러 이를 효율적으로 생산하기 위한 연구가 요구되고 있다. 또한 새로운 구조와 특성을 가지고 있는 functional PHA_{MCL}의 개발을 위해서는 이들 고분자 물질의 생분해 기작을 정확하게 이해하는 것이 필요하다. 특히 PHA_{MCL}의 화학적 조성 and 생분해성 사이의 관계를 이해할 수 있을 경우, PHA_{MCL}의 화학적 조성의 변화를 통하여 생분해도를 조절할 수 있을 것이며, 이로 인하여 PHA_{MCL}의 산업적 용도를 확장시키는데 있어서도 크게 기여할 것으로 믿어진다.

본 내용에 인용된 저자들의 실험결과 일부는 한국과학재단 특장기조연구 (1999-2-20200-006-4)의 지원에 의해 수행된 것임.

참고문헌

1. Abe, H., Y. Taima, Y. Nakamura, and Y. Doi. 1990. New bacterial copolyester of 3-hydroxyalkanoates and 3-hydroxy- ω -fluoroalkanoates produced by *Pseudomonas oleovorans*. *Polym. Commun.* 31:404-406.
2. Amas, W., A. Amas, and B. Tighe. 1998. A review of biodegradable polymers: use, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polym. Int.* 47:89-144.
3. Andújar, M., M.A. Aponte, E. Diaz, and E. Schröder. 1997. Polyesters produced by *Pseudomonas oleovorans* containing cyclohexyl groups. *Macromolecules* 30:1611-1615.
4. Aróstegui, S.M., M.A. Aponte, E. Diaz, and E. Schröder. 1999. Bacterial polyesters produced by *Pseudomonas oleovorans* containing nitrophenyl groups. *Macromolecules* 32:2889-2895.
5. Ashby, R.D. and T.A. Foglia. 1998. Poly(hydroxyalkanoate) biosynthesis from triglyceride substrates. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49:431-437.
6. Ashby, R.D., T.A. Foglia, C.-K. Liu, and J.W. Hampson.

1998. Improved film properties of radiation-treated medium-chain-length poly(hydroxyalkanoates). *Biotechnol. Lett.* 20:1047-1052.
7. Ashby, R.D., A.M. Cromwick, and T.A. Foglia. 1998. Radiation crosslinking of a bacterial medium-chain-length poly(hydroxyalkanoate) elastomer from tallow. *Int. J. Biol. Macromol.* 23:61-72.
 8. Ashby, R.D., T.A. Foglia, D.K.Y. Solaiman, C.-K. Liu, A. Nuñez, and G. Eggink. 2000. Viscoelastic properties of linseed oil-based medium chain length poly(hydroxyalkanoate) films: effects of epoxidation and curing. *Int. J. Biol. Macromol.* 27:355-361.
 9. Babu, G.N., W.J. Hammer, D.R. Rutherford, R.W. Lenz, R. Richards, and S.D. Goodwin. 1996. Poly-3-hydroxyalkanoates as pressure sensitive adhesives. In: *International Symposium on Bacterial Polyhydroxyalkanoates RIKEN, Japan.*
 10. Baptist. January 1963. U.S. patent 3,072,538.
 11. Baptist. October 1963. U.S. patent 3,107,172.
 12. Brandle, H., R.A. Gross, R.W. Lenz, R. Lloid, and R.C. Fuller. 1991. The accumulation of poly(3-hydroxyalkanoates) in *Rhodobacter sphaeroides*. *Arch. Microbiol.* 155:337-340.
 13. Braunegg, G., G. Lefebvre, and K.F. Genser. 1998. Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: physiological and engineering aspects. *J. Biotechnol.* 65:127-161.
 14. Choi, J. and S.Y. Lee. 1999. Factors affecting the economics of polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51:13-21.
 15. Chung, C.W., Y.S. Kim, Y.B. Kim, K.S. Bae, and Y.H. Rhee. 1999. Isolation of a *Pseudomonas* sp. strain exhibiting unusual behavior of poly(3-hydroxyalkanoates) biosynthesis and characterization of synthesized polyesters. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9:847-853.
 16. Constantin, M., C.I. Simionescu, A. Carpov, E. Samain, and H. Driguez. 1999. Chemical modification of poly(hydroxyalkanoates). Copolymers bearing pendent sugars. *Macromol. Rapid Commun.* 20:91-94.
 17. Cromwick, A.M., T. Foglia, and R.W. Lenz. 1996. The microbial production of poly(hydroxyalkanoates) from tallow. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46:464-469.
 18. Curley, J.M., B. Hazer, R.W. Lenz, and R.C. Fuller. 1996. Production of poly(3-hydroxyalkanoates) containing aromatic substituents by *Pseudomonas oleovorans*. *Macromolecules* 29:1762-1766.
 19. De Koning, G.J.M., H.M.M. van Bilsen, P.J. Lemstra, W. Hazenberg, B. Witholt, H. Preusting, J.G. van der Galiën, A. Schirmer, and D. Jendrossek. 1994. A biodegradable rubber by crosslinking poly(hydroxyalkanoate) from *Pseudomonas oleovorans*. *Polymer* 35:2090-2097.
 20. Doi, Y., A. Tamaki, M. Kunioka, and K. Soga. 1988. Production of copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by *Alcaligenes eutrophus* from butyric acid and pentanoic acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28:330-334.
 21. Doi, Y. and H. Abe. 1990. Biosynthesis and characterization of a new bacterial copolyester of 3-hydroxyalkanoates and 3-hydroxy- ω -chloroalkanoates. *Macromolecules* 23:3705-3707.
 22. Doi, Y., S. Kitamura, and H. Abe. 1995. Microbial synthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). *Macromolecules* 28:4822-4828.
 23. Eligio, T., J. Rieumont, R. Sánchez, and J.F.S. Silva. 1999. Characterization of chemically modified poly(3-hydroxyalkanoates) and their performance as matrix for hormone release. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie* 270:69-75.
 24. Findlay, R.H. and D.C. White. 1983. Polymeric beta-hydroxyalkanoates from environmental samples and *Bacillus megaterium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:71-78.
 25. Foster, L.J.R., S.J. Zervas, R.W. Lenz, and R.C. Fuller. 1995. The biodegradation of poly-3-hydroxyalkanoates, PHAs, with long alkyl substituents by *Pseudomonas maculicola*. *Biodegradation* 6:67-73.
 26. Fuchtenbusch, B., D. Fabritius, M. Wältermann, and A. Steinbüchel. 1998. Biosynthesis of novel copolyesters containing 3-hydroxypivalic acid by *Rhodococcus ruber* NCIMB 40126 and related bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 159:85-92.
 27. Fuchtenbusch, B. and A. Steinbüchel. 1999. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates from low-rank coal liquifaction products by *Pseudomonas oleovorans* and *Rhodobacter ruber*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52:91-95.
 28. Haywood, G.W., A.J. Anderson, G.A. Williams, E.A. Dawes, and D.F. Ewing. 1991. Accumulation of a poly(hydroxyalkanoate) copolymer containing primarily 3-hydroxyvalerate from simple carbohydrate substrates by *Rhodococcus* sp. NCIMB 40126. *Int. J. Biol. Macromol.* 13:83-87.
 29. Hiramitsu, M., N. Koyama, and Y. Doi. 1993. Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) by *Alcaligenes latus*. *Biotechnol. Lett.* 15:461-464.

30. Hazenberg, W. and B. Witholt. 1997. Efficient production of medium-chain-length poly(3-hydroxyalkanoates) from octane by *Pseudomonas oleovorans*: economic considerations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48:588-596.
31. Hazer, B., R.W. Lenz, and R.C. Fuller. 1996. Bacterial production of poly-3-hydroxyalkanoates containing arylalkyl substituent groups. *Polymer* 37:5951-5957.
32. He, W., W. Tian, G. Zhang, G.-Q. Chen, and Z. Zhang. 1998. Production of novel polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas stutzeri* 1317 from glucose and soybean oil. *FEMS Microbiol. Lett.* 169:45-49.
33. Honma, T., T. Imamura, T. Yano, T. Kenmoku, T. Kobayashi, and S. Kobayashi. 2000. Biosynthesis of some unusual polyhydroxyalkanoates by newly isolated *Pseudomonas* strains. In: *International Symposium on Environmental Biotechnology*. Kyoto, Japan.
34. Hujiberts, G.N.N., H. van der Waal, R.A. Weusthuis, and G. Eggink. 1996. In: *International Symposium on Bacterial Polyhydroxyalkanoates*. Davos, Switzerland.
35. Jendrossek, D. 1998. Microbial degradation of polyesters: a review on extracellular poly(hydroxyalkanoic acid) depolymerases. *Polym. Degrad. Stab.* 59:317-325.
36. Kassab, A.C., K. Xu, E.B. Denkba, Y. Dou, S. Zhao, and E. Pikin. 1997. Rifampicin carrying polyhydroxybutyrate microspheres as a potential chemoembolization agent. *J. Biomater. Sci. Polymer* 8:947-961.
37. Kellerhals, M.B., W. Hazenberg, and B. Witholt. 1999. High cell density fermentations of *Pseudomonas oleovorans* for the production of mcl-PHAs in two-liquid phase media. *Enzyme Microb. Technol.* 24:111-116.
38. Kim, B.S., S.C. Lee, S.Y. Lee, H.N. Chang, Y.K. Chang, and S.I. Woo. 1994. Production of poly(3-hydroxybutyric acid) by fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with glucose concentration control. *Biotechnol. Bioeng.* 43:892-898.
39. Kim, B.S. and H.N. Chang. 1998. Production of poly(3-hydroxybutyrate) from starch by *Azotobacter chroococcum*. *Biotechnol. Lett.* 20:109-112.
40. Kim, D.Y., Y.B. Kim, and Y.H. Rhee. 1998. Bacterial poly(3-hydroxyalkanoates) bearing carbon-carbon triple bonds. *Macromolecules* 31:4760-4763.
41. Kim, D.Y., Y.B. Kim, and Y.H. Rhee. 2000. Evaluation of various carbon substrates for the biosynthesis of polyhydroxyalkanoates bearing functional groups by *Pseudomonas putida*. *Int. J. Biol. Macromol.* 28:23-29.
42. Kim, D.Y., J.S. Nam, and Y.H. Rhee. Purification and characterization of an extracellular medium-chain-length poly(3-hydroxyalkanoate) depolymerase from *Pseudomonas alcaligenes* LB19. Manuscript in preparation.
43. Kim, G.J., I.Y. Lee, S.C. Yoon, Y.C. Shin, and Y.H. Park. 1997. Enhanced yield and a high production of medium-chain-length poly(3-hydroxyalkanoates) in a two-step fed-batch cultivation of *Pseudomonas putida* by combined use of glucose and octanoate. *Enzyme Microb. Technol.* 20:500-505.
44. Kim, G.J., K.H. Bang, Y.B. Kim, and Y.H. Rhee. 2000. Preparation and characterization of native poly(3-hydroxybutyrate) microspheres from *Ralstonia eutropha*. *Biotechnol. Lett.* 22:1487-1492.
45. Kim, H., H.-S. Ju, and J. Kim. 2000. Characterization of an extracellular poly(3-hydroxy-5-phenylvalerate) depolymerase from *Xanthomonas* sp. JS02. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53:323-327.
46. Kim, H.M., K.E. Ryu, K.S. Bae, and Y.H. Rhee. 2000. Purification and characterization of extracellular medium-chain-length polyhydroxyalkanoate depolymerase from *Pseudomonas* sp. RY-1. *J. Biosci. Bioeng.* 89:196-198.
47. Kim, O.Y., R.A. Gross, and D.R. Rutherford. 1995. Bioengineering of poly-(β -hydroxyalkanoates) for advanced material applications: incorporation of cyano and nitrophenoxy side chain substituents. *Can. J. Microbiol.* 41:32-43.
48. Kim, O.Y., R.A. Gross, W.J. Hammer, and R.A. Newmark. 1996. Microbial synthesis of poly(β -hydroxyalkanoates) containing fluorinated side-chain substituents. *Macromolecules* 29:4572-4581.
49. Kim, Y.B., R.W. Lenz, and R.C. Fuller. 1991. Preparation of poly(β -hydroxyalkanoates) obtained from *Pseudomonas oleovorans* grown with mixtures of 5-phenylvaleric acid and *n*-alkanoic acids. *Macromolecules* 24:5256-5260.
50. Kim, Y.B., R.W. Lenz, and R.C. Fuller. 1992. Poly(β -hydroxyalkanoates) copolymers containing brominated repeating units produced by *Pseudomonas oleovorans*. *Macromolecules* 25:1852-1857.
51. Kim, Y.B., R.W. Lenz, and R.C. Fuller. 1995. Poly-3-hydroxyalkanoates containing unsaturated repeating units produced by *Pseudomonas oleovorans*. *J. Polym. Sci.(Part A: Polymer chemistry)* 33:1367-1374.
52. Kim, Y.B., Y.H. Rhee, S.H. Han, G.S. Heo, and J.S. Kim. 1996. Poly-3-hydroxyalkanoates produced from *Pseudomonas oleovorans* grown with α -phenoxyalkanoates. *Macromolecules* 29:3432-3435.

53. Kim, Y.B., D.Y. Kim, and Y.H. Rhee. 1999. PHAs produced by *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas oleovorans* grown with *n*-alkanoic acids containing aromatic groups. *Macromolecules* 32:6058-6064.
54. Kim, Y.B., Y.H. Rhee, J.S. Kim, and S.S. Kim. Poly(3-hydroxyalkanoates) with enhanced hydrophilicity: PHAs bearing alkoxy groups produced from *Pseudomonas oleovorans*. Manuscript in preparation.
55. Koosha, F., R.H. Muller, and S.S. Davis. 1989. Polyhydroxybutyrate as a drug carrier. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 6:117-130.
56. Lee, M.Y., S.Y. Cha, and W.H. Park. 1999. Crosslinking of microbial copolyesters with pendent epoxide groups by diamine. *Polymer* 40:3787-3793.
57. Lee, M.Y., W.H. Park, and R.W. Lenz. 2000. Hydrophilic bacterial polyesters modified with pendent hydroxyl groups. *Polymer* 41:1703-1709.
58. Lee, S.H., D.H. Oh, W.S. Ahn, Y. Lee, J. Choi, and S.Y. Lee. 2000. Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) by high-cell-density cultivation of *Aeromonas hydrophila*. *Biotechnol. Bioeng.* 67:240-244.
59. Lee, S.Y. 1996. High cell density cultivation of *Pseudomonas oleovorans* for the production of poly(3-hydroxyalkanoates). *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 1:51-53.
60. Lee, S.Y. and J. Choi. 1998. Effect of fermentation performance on the economics of poly(3-hydroxybutyrate) production by *Alcaligenes latus*. *Polym. Degrad. Stab.* 59:387-393.
61. Lee, S.Y., J. Choi, and H.H. Wong. 1999. Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation. *Int. J. Biol. Macromol.* 25:31-36.
62. Lee, S.Y., Y. Lee, and F. Wang. 1999. Chiral compounds from bacterial polyesters: sugars to plastics to fine chemicals. *Biotechnol. Bioeng.* 65:363-368.
63. Lee, S.Y., H.H. Wong, J. Choi, S.H. Lee, S.C. Lee, and C.S. Han. 2000. Production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates by high-cell-density cultivation of *Pseudomonas putida* under phosphorus limitation. *Biotechnol. Bioeng.* 68:466-470.
64. Lenz, R.W., B.W. Kim, H.W. Ulmer, K. Fritzsche, E. Knee, and R.C. Fuller. 1990. Functionalized poly- β -hydroxyalkanoates produced by bacteria. In: *Novel Biodegradable Microbial polymers* (E.A. Dawes. Ed.), pp. 23-35, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
65. Lenz, R.W., Y.B. Kim, and R.C. Fuller. 1992. Production of unusual bacterial polyesters by *Pseudomonas oleovorans* through cometabolism. *FEMS Microbiol. Rev.* 103:207-214.
66. Liebergesell, M., E. Hustede, A. Time, A. Steinb chel, R.C. Fuller, R.W. Lenz, and H.G. Schlegel. 1991. Formation of poly(3-hydroxyalkanoates) by phototrophic and chemolithotrophic bacteria. *Arch. Microbiol.* 155:415-421.
67. Madison, L.L. and G.W. Huisman. 1999. Metabolic engineering of poly(3-hydroxyalkanoates): from DNA to plastic. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63:21-53.
68. Matsusaki, H., H. Abe, and Y. Doi. 2000. Biosynthesis and properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyalkanoates) by recombinant strains of *Pseudomonas* sp. 61-3. *Biomacromolecules* 1:17-22.
69. Page, W.J., N. Bahnthumnavin, J. Manchak, and M. Ruman. 1997. Production of poly(β -hydroxybutyrate- β -hydroxyvalerate) copolymer from sugars by *Azotobacter salinestris*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48:88-93.
70. Park, S.K., K.T. Lee, Y.B. Kim, and Y.H. Rhee. 1997. Biosynthesis of polyhydroxybutyrate and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by *Bacillus thuringiensis* R-510. *J. Microbiol.* 35:127-133.
71. Poirier, Y., C. Nawrath, and C. Somerville. 1995. Production of polyhydroxyalkanoates, a family of biodegradable plastics and elastomers, in bacteria and plants. *Biotechnology* 13:142-149.
72. Pouton, C.W. and S. Akhtar. 1996. Biosynthetic polyhydroxyalkanoates and their potential in drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.* 18:133-162.
73. Quinteros, R., S. Goodwin, R.W. Lenz, and W.H. Park. 1999. Extracellular degradation of medium chain length poly(β -hydroxyalkanoates) by *Comamonas* sp.. *Int. J. Biol. Macromol.* 25:135-143.
74. Ramsay, B.A., I. Saracovan, J.A. Ramsay, and R.H. Marchessault. 1994. A method for the isolation of microorganism producing extracellular long-side-chain poly(β -hydroxyalkanoate) depolymerase. *J. Environ. Polym. Degrad.* 2:1-7.
75. Rhee, Y.H., J.-H. Jang, and P.L. Rogers. 1993. Production of copolymer consisting of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by fed-batch culture of *Alcaligenes* sp. SH-69. *Biotechnol. Lett.* 15:377-382.
76. Schirmer, A., D. Jendrossek, and H.G. Schlegel. 1993. Degradation of poly(3-hydroxyoctanoic acid) [P(3HO)] by bacteria: purification and properties of a P(3HO) depolymerase from *Pseudomonas fluorescens* GK13. *Appl.*

- Environ. Microbiol.* 59:1220-1227.
77. Sendil D., I. Gürsel, D.L. Wise, and V. Hasý rcý . 1999. Antibiotic release from biodegradable PHBV microparticles. *J. Control. Release* 59:207-217.
78. Solaiman, D.K.Y., R.D. Ashby, and T.A. Foglia. 1999. Medium-chain-length poly(β -hydroxyalkanoate) synthesis from triglycerols by *Pseudomonas saccharophila*. *Curr. Microbiol.* 38:151-154.
79. Song, J.J. and S.C. Yoon. 1996. Biosynthesis of novel aromatic copolyesters from insoluble 11-phenoxyundecanoic acid by *Pseudomonas putida* BM01. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:536-544.
80. Steinbüchel, A. and S. Wise. 1992. A *Pseudomonas* strain accumulating polyesters of 3-hydroxybutyric acid and medium-chain-length 3-hydroxyalkanoic acids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 37:601-607.
81. Steinbüchel, A. and H.E. Valentin. 1995. Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids. *FEMS. Microbiol. Lett.* 128:219-228.
82. Takagi, Y., M. Hashii, A. Maehara, and T. Yamane. 1999. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate with a thiophenoxy side group obtained from *Pseudomonas putida*. *Macromolecules* 32:8315-8318.
83. Tan, I.K.P., K.S. Kumar, M. Theanmalar, S.N. Gan, and B. Gordon III. 1997. Saponified palm kernel oil and its major free fatty acids as carbon substrates for the production of polyhydroxyalkanoates in *Pseudomonas putida* PGA1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 47:207-211.
84. Valentin, H.E., P.A. Berger, K.J. Gruys, M.F. de Andrade Rodrigues, A. Steinbüchel, M. Tran, and J. Asrar. 1999. Biosynthesis and characterization of poly(3-hydroxy-4-pentenoic acid). *Macromolecules* 32:7389-7395.
85. Van der Walle, G.A.M., G.J.H. Buisman, R.A. Weusthuis, and G. Eggink. 1999. Development of environmentally friendly coatings and paints using medium-chain-length poly(3-hydroxyalkanoates) as the polymer binder. *Int. J. Biol. Macromol.* 25:123-128.
86. Vasney, V.A. 1997. Biodegradable polymers. *Polymer Science Ser. B* 39:474-485.
87. Webb, A. February 1990. U.S. patent 49,000,299.
88. Williams S.F., D.P. Martin, D.M. Horowitz, and O.P. Peoples. 1999. PHA applications: addressing the price performance issue I. tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 25:111-121.
89. Witholt, B. and B. Kessler. 1999. Perspectives of medium chain length poly(hydroxyalkanoates), a versatile set of bacterial bioplastics. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10:279-285.



 이 영 하

- 1975년 서울대학교 미생물학과 졸업
- 1985년 서울대학교 대학원 미생물학과 (이학박사)
- 1992-1993년 호주 New South Wales 대학교 생물공학과 객원연구원
- 1986-현재 충남대학교 미생물학과 교수
-