

## 고정화세포를 이용한 이차대사산물 생산 공정 및 탈황 공정

장용근<sup>a</sup>, 전계택<sup>a</sup>, 정연호<sup>b</sup>, 이상중<sup>c</sup>

KAIST 생명화학공학과, 강원대학교 생명과학부<sup>a</sup>, 강원대학교 생명공학부<sup>b</sup>,

(주)STR 바이오텍<sup>c</sup>

전화 (042) 869-3927, FAX (042) 869-3910

세포를 담체에 고정화하여 이용할 경우 반응기내의 세포농도를 높게 유지할 수 있음으로 인해 생산성을 크게 높을 수 있다는 기본적인 장점 외에도 여러 가지 공정상의 잇점들이 있다. 일례로 곰팡이, 방선균 등 균사생성 미생물을 구형 담체에 고정화시키게 되면 균의 성장(morphology)이 pellet 형태로 되기 때문에 높은 균체 농도에서도 배양액 점도가 높아지는 것을 방지할 수 있으며 따라서 산소전달 면에서 크게 유리하다. 고부가가치 생물약품 등 다양한 생물공학 제품의 원천인 이차대사산물의 생산에 있어서는 일반적으로 세포성장이 이루어진 후 세포성장이 거의 멈춘 상태에서 본격적인 생산이 이루어지는 바, 이러한 경우에 고정화세포 공정이 현탁 배양 공정에 비해 월등히 유리하다.

현탁 세포 배양의 경우 매 회분마다 반응기를 세척하고 배지를 충전하고 멸균하는 과정이 필요하며 배양에 들어가서도 본격적인 생산단계 전의 비생산적인 세포성장단계에 필요한 시간이 길어 근본적으로 생산성의 낮을 수밖에 없는 문제점이 있다. 그러나, 고정화 세포 공정의 경우 일련의 전처리 과정(반응기 세척, 담체 및 배지 충전, 세포성장)을 한번만 거치고 나면 이후 장기간에 걸쳐 연속식, 반복 회분식, 또는 반복 유가식 배양을 통해 제품을 생산할 수 있어 공정에 소요되는 시간의 대부분을 생산에 할애할 수 있다는 장점이 있다. 상기 세가지 유형의 조업 방식에서는 한번 생성된 균체를 반복사용하는 효과가 있기 때문에 현탁 배양에서 처럼 매 회분마다 균체 생성을 위해 필요한 기질 사용을 절감하는 동시에 균체 폐기물의 양을 획기적으로 줄일 수 있다. 이는 환경친화적 청정 생물 공정 기술의 개발이라는 측면에서 근래에 들어 그 의미가 크게 부각되고 있다.

고정화세포 공정은 이미 1970년대 후반부터 생물변환에 의한 아미노산 생산, 폐수처리 등에 사용되기 시작하였는데 근래에는 생물제품 생산보다는 환경처리에 더 활발히 적용되고 있는 추세이다. 1980년 중반 일본과 국내에서 alginate등의 생물 고분자 비드, 고분자 막 등을 담체로 이용한 효모에 의한 에탄올 발효 공정 개발 시도가 있었으나 기체 발생에 따른 담체 입자 팽창 및 파괴 형상과 물질전달 제한 등의 문제점으로 인해 성공적이지 못하였다. 그 이후로는 고정화 세포 공정에 대한 연구가 동물 세포 배양에 관련된 것 이외에는 비교적 한산한 편이었다.

현탁배양에 비해 여러 가지 잠재적 잇점을 가짐에도 불구하고 고정화세포 공정이 생물제품 생산 공정에 활발히 적용되지 못한 것은 첫째, 고정화세포 공정이 갖는 공정상의 잇점에 대한 깊이 있는 인식이 부족하였고, 둘째, 적절한 기계적 강도, 비중 등의 특성을 갖는 다양한 담체의 탐색 및 개발이 성공적으로 이루어지지 않은 데다가 셋째, 담체의 특성을 최대한 살린 새로운 형태의 반응기 개발이 활발히 이루어지지 못한 때문으로 사료된다.

그러나, 근래에 들어 가급적 많은 화학공정을 환경친화적 생물공정으로 대체 또는 보완하려는 움직임이 활발해짐에 따라 일반적으로 생물공정이 갖는 가장 취약한 점인 낮은 생산성의 극복이 큰 관심사가 되었으며 이러한 관점에서 고정화세포 이용 공정과 이에 필요한 생물반응기 개발 노력이 점차 중요해지고 있다.

본 연구진에서는 세라믹 재질로 된 구형의 담체인 celite에 미생물을 고정화 하는 방법을 중점적으로 연구해 왔는데, 주된 이유는 celite는 높은 공극률에도 불구하고 교반에 견딜 수 있는 충분한 기계적 강도를 지녔으며, 세포가 고정화된 상태에서 적절한 비중을 나타내기 때문에 기존의 통기형 교반 생물반응기를 그대로 사용할 수 있다는 점과 세포를 pellet 형태로 유지하기가 용이하여 산소전달에 유리하다는 점이였다.

상기의 고정화 방법을 곰팡이 균에 의한 cyclosporin A 생산을 위해 연속배양 공정, 방선균에 의한 kasugamycin 연속생산 공정에 적용한 결과 통상적인 현탁회분식 배양에 비해 5~20배의 생산성 향상이 가능함을 보였다[1-3]. 또한 지버렐린의 반복 회분식 생산에도 적용하여 세포를 10회정도 반복 사용하여도 활성저하가 없음을 입증하였다. 석유탈황 공정에서 발생하는 배기가스 중의 고농도의 황화수소 제거를 위한 chemo-biological 공정에 있어 율속단계인 박테리아에 의한 철산화 단계에 celite를 이용한 연구에 있어서는 적절한 배지의 개발에 힘입어 침전 생성에 의한 blocking 현상 없이 장기간 높은 성능을 보이는 연속조업 안정성을 입증하였다[4-5]. 또한, depth filter를 담체를 이용한 철산화 연속공정을 개발함으로써 보다 높은 처리성능을 얻을 수 있었다. 현재 디젤유의 탈황을 위해서 celite 외에도 폐수처리에 널리 사용되고 있는 섬유상 담체를 이용한 연속공정을 개발하고 있다[6].

## 참고문헌

1. T.H. Lee, G.-T. Chun, and Y.K. Chang, "Development of Sporulation/ Immobilization Method and Its Application for the Continuous Production of Cyclosporin A by *T. inflatum*", *Biotechnol. Prog.* (1997), **13**, 546-550.
2. T.H. Lee, G.T. Chun, Y.K. Chang, "Development of Cell-Loaded Biosupport Separator for Continuous Immobilized-Cell Perfusion Culture", *Biotechnol. Prog.*, (1999), **15**, 267-272.
3. Chang Jun Kim, Yong Keun Chang, Gie-Taek Chun, Yeon-Ho Jeong, and Sang Jong Lee, "Continuous Culture of Immobilized *Streptomyces* Cells for Kasugamycin Production", *Biotechnol. Prog.* (2001), **17**, 453-461.
4. 김태완, 김창준, 장용근, "화학·생물학적 황화수소 제거 공정에 있어서 고정화 세포를 이용한 철산화 속도 증진", *한국생물공학회지* (1999), **14**(5), 585-592.
5. Tae Wan Kim, Chang Joon Kim<sup>1</sup>, Yong Keun Chang, Hee Wook Ryu, and Kyung-Suk Cho, "Development of an optimal medium for continuous ferrous iron oxidation by immobilized *Acidithiobacillus ferrooxidans* cells", *Biotechnol. Prog.* (2002), accepted.
6. J.H. Chang, Y.K. Chang, H.W. Ryu, H.N. Chang, "Desulfurization of light gas oil in immobilized-cell systems of *Gordona* sp. CYKS1 and *Nocardia* sp. CYKS2, *FEMS Microbiology Letters* (2000), **182**(2), 309-312.