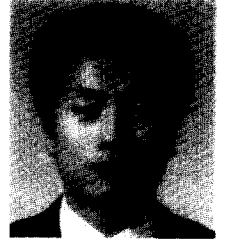


微生物을 이용한 L-Lycine 생산

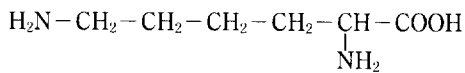


味元食品(株) 技術研究所 鄭 甲 澤

1. 序 論

1889년 E. Drechsel(1)이 Caseine 加水分解物로부터 인팅그스텐염으로 분리한 새로운 아미노산을 Lysatine이라命名했지만 얼마 안되어 이것이 混合物로 있는 것을 알아, 1891년 그의 제자인 Ernst Fischer(2)가 混在하는 Arginine을 제거한 순수한 아미노산을 얻어 이것을 Lysine이라命名하였다.

1902년 Emil Fisher(3)에 의하여 γ -Cyano propyl malonic ester로 Lysine 化學的 合成에 성공하여 α , ϵ -Diaminocaproic Acid의 구조로 확정하였다.



Lysine
(α, ϵ -Diaminocaproic Acid)

1914년 Osborne과 Mendel(4)에 의하여 Lysine이 필수아미노산인 것으로 확인하였다.

현재 라이신은 微生物을 利用하여 工業적으로 대량생산이 가능하게 됨으로써 Mono Sodium Glutamate 조미료(세계 생산량; 약 34만Ton/년)와 함께 두번째로 연간 약 15만Ton을 생산하는 중요한 아미노산 발효공업이 되었다.

라이신은 주로 家畜飼料 營養強化제로 이용되고 있다. 飼料의 主成分으로 있는 옥수수 등의 단백질의 아미노산 발란스를 改善하기 위하여 지금까지 라이신의 함량이 높은 漁粉이나 대두박을 첨가해 왔으나, 최근에는 이들 대신에 L-Lysine을 사용하게 되어 그 수요가 급격하게 늘어나게 되었다.

사람에 있어서 L-라이신의 缺乏症狀으로는 體重減少, 成長不振, 惡心, 神經過敏症, 월경주기의 變調, 不快感, 갈증, 인 등의 代謝 阻害받는 骨齒 등의 骨格質 軟화를 들수 있으며 가축의 L-라이신의 사

용효과로써는 조단백 절약효과, 증체개선, 육질개선, 임신 및 젖 생성을 위한 영양강화를 들수 있다.

L-라이신은 Table 1에서 알 수 있는 바와 같이 여러가지의 제조방법이 검토되었지만 현재에 있어서는 Coryne bacterium과 Brevibacterium에 의한 직접발효법에 의해서 생산되고 있으며 酵素法에 의한 Lysine 생산은 몇년 전부터 중단되었다.

Table 2는 Marker별 L-Lysine 생산 Capacity를 보여주고 있다.

미국의 ADM 회사가 년 50,000톤 규모로, 제일 제당이 인도네시아에 10,000톤 규모의 삼성 아스트라 공장을 신설했으나, 현재 Scale up상에 있어서 여러가지 문제가 발생하여 생산이 늦어지고 있는 것으로 알려지고 있다.

有用한 物質과 에너지의 生産에 寄與하고 있는 微生物 工業이 당면하고 있는 주요 연구과제는 醱酵의 主體가 되는 菌株을 改良, 育種하는 일과 醱酵工程을 效率化 하는 일이다.

生産用 菌株을 改良하는 방안으로는 代謝 生成能을 높여 주든가 醱酵時間을 短縮시켜 單位 時間當의 生産性を 높여주어야 한다.

여기에서는 L-라이신의 生合成의 調節機構, 生産菌의 育種 및 培養 프로세스에 관한 最近의 研究를 소개하고자 한다.

2. 라이신 生合成 經路

微生物에 있어서 L-라이신의 生合成 經路는 다른 아미노산과는 달리 2가지의 經路, 즉 디아미노피페린산 經路와 α -아미노아디핀산 經路가 존재한다.

라이신이 어떤 經路를 통해서 合成되는가는 生物의 종류에 따라 다르며 어느 한 경로를 利用하는 것은 다른 經路를 거치지 않는다.

Table 1. L-Lysine 제조법

製造法	原 料	世界 生産量 (톤/년)	비고
蛋白質 加水分解法	대두박, 카제인		
醱酵法			
(1) 直接 醱酵法	당밀, 澱粉 糖化液	15만	
(2) 前驅體 添加法	디아미노피메린산		
酵素法	DL-아미노락탐	4,000	생산중단
合成法	카프로락탐 아크릴로니트릴		

Table 2. L-Lysine Maker별 Capacity(1991년)

(단위: 톤/년, %)

회 사	공장위치	생산능력	구성비	비 고
미원식품(주)	한 국	40,000	27.1	
味の素	일 본	13,000	8.8	
EUROLYSINE	프랑스	40,000	27.1	味の素관련회사
HLL	미 국	12,000	8.2	味の素관련회사
AJI-THAILAND	태 국	3,000	2.0	味の素관련회사
協和醱酵	일 본	13,000	8.8	
BIOKYOWA	미 국	13,600	9.2	協和醱酵관련회사
FERMEX	멕시코	10,000	6.8	
FUNI	헝가리	3,000	2.0	
합	계	147,600	100	

2.1 디아미노피메린산 經路(Diaminopimelic acid)

이 경로는 트레오닌, 메치오닌, 이소로이신의 생합성과 같이 아스파라긴산을 출발물질로 하여 細菌, 綠藻, 原蟲 및 高等植物에 存在한다.

現在 알려진 細菌의 라이신 生合成 經路는 그림 1과 같다.

2.2 디아미노피메린산 經路의 調節

지금까지 알려진 細菌의 라이신 生合成 酵素의 制御는 Table 3과 같다.

*Brev. lactofermentum*의 라이신 生合成 調節은 *Bev. flavum*, *C. glutamicum*에서 唯一한 調節部位인 아스파르토키나제와 더불어 DDP 合成酵素에서도 행해진다(Fig. 2 참조).

2.3 α-아미노아디핀산 經路

현재 알려진 酵母, 곰팡이의 Lysine 生合成 經路를 Fig. 3에 나타내었다. 이 경로는 酵母에서는 주로 *Saccharomyces cerevisiae*, 곰팡이에서는 *Neurospora crassa*에서 알려졌다.

2.4 α-아미노아디핀산 經路의 調節

酵母와 곰팡이의 Lysine 生合成의 調節에 대하여

Table 4에 나타내었다.

3. Lysine 生産菌

a. *Brevibacterium*, *Corynebacterium*

지금까지 Lysine의 工業的 生産은 直接醱酵法 및 合成 中間體의 酵素的 轉換法에 의하여 생산하여 왔으나 최근에 이르러서는 우수한 균주의 개발에 성공하여 직접발효법으로만 생산하고 있는 실정이다.

直接醱酵法에 의한 Lysine 生産은 *Brevibacterium*과 *Corynebacterium*屬 細菌의 各種 變異株를 이용하고 있으나 이들의 균주는 *E. coli*에 비해 라이신 生合成의 調節이 單純하고 透過性, 分解의 점에서도 育種 原株로서의 有利性을 갖고 있다. 通常 라이신 生産菌은 N-메칠-N'-니트로-N-니트로소구아닌(NTC) 處理나 紫外線 照射를 하여 變異處理한 營養要求性株, 感受性株, Analog 耐性株(代謝調節 變異株) 및 이들을 組合한 菌株로 分類할 수 있다 (Table 5 참조).

榮養 要求性株로서는 *C. glutamicum*의 Homose-

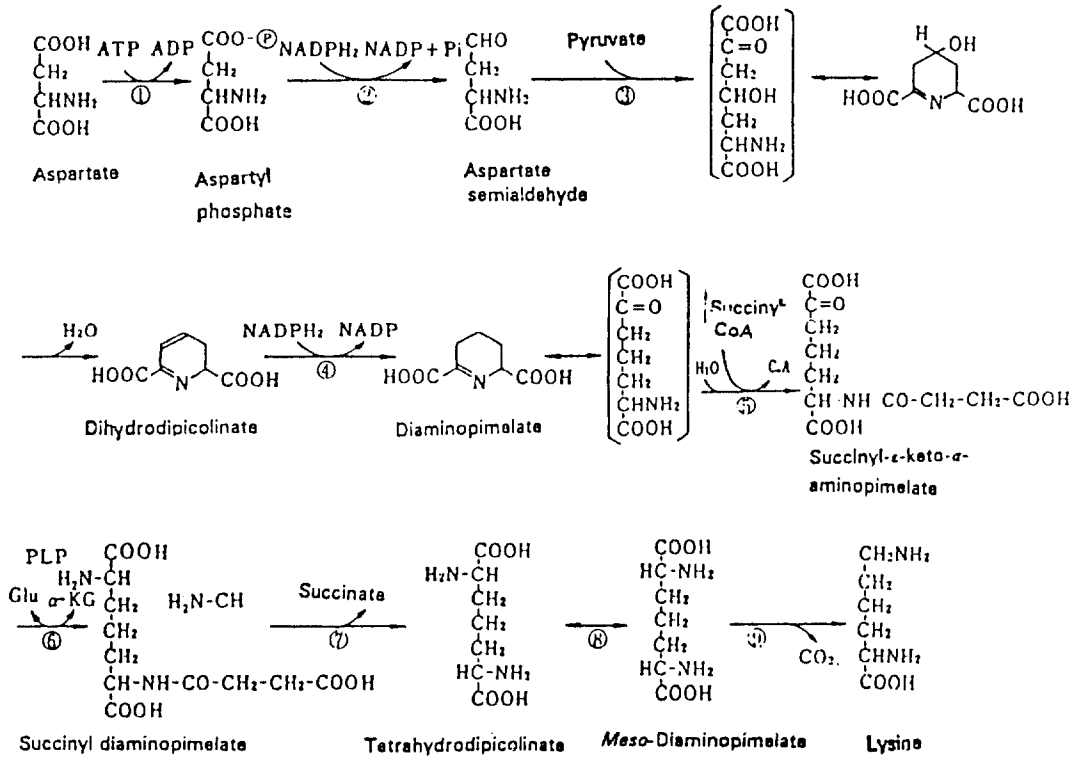


Fig. 1. 細菌의 L-Lysine 生合成 經路(Diaminopimelic acid 經路). 효소명: ① Aspartokinase ② Asparaginic acid semialdehydrogenase ③ Dihydrodipicolinic acid 합성효소 ④ Dihydroxypipercolinic acid reductase ⑤ N-Succinyl- ϵ -keto-L- α -aminopimelic acid 합성효소 ⑥ Succinyl diaminopimelic acid transferminase ⑦ Succinyl diaminopimelic acid deamylase ⑧ Diaminopimelic acid epimerase ⑨ Diaminopimelic acid decarboxylase

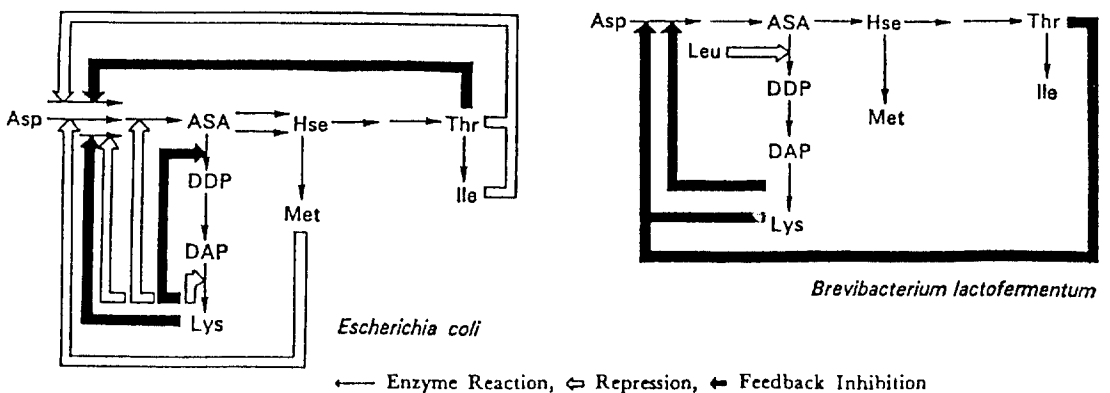


Fig. 2. 라이신 生合成의 調節(*Brevibacterium lactofermentum*). ASA, aspartate- β -semialdehyde; DDP, dihydrodipicolinate; DAP, α , ϵ -Diaminopimelate; Hse, homoserine.

rine 要求性株, *Brev. flavum*의 Threonine, Methionine 要求性株 등이 報告된 바 있으며 第2의 感受性株는 椎尾 등에 의하여 Threonine, Methionine

感受性株로 하여 育種시켰다. 이 菌은 Homoserine 脱水素酶素活性이 野生株의 1/30로 되어 Lysine · HCl을 25g/l 蓄積시켰다.

Table 3. 디아미노피에린산 經路의 調節

酵 素	微 生 物	Repressor	Inhibitor	文 獻
Aspartokinase	<i>Escherichia coli</i>	① Thr + Ile	① Thr	a) 6, 7
	<i>Serratia marcescens</i>	② Met		b) 8, 9
		③ Lys	③ Lys	
	<i>Brevibacterium flavum</i>		Thr + Lys	10-12
	<i>Corynebacterium glutamicum</i>			13
	<i>Bacillus polymixa</i>			14
	<i>Rhodopseudomonas capsulatus</i>			15
	<i>Brev. lactofermentum</i>		Thr + Lys,	5, 16
	<i>Bacillus brevis</i>		Lys	17,18
	<i>Pseudomonas putida</i>			19,20
	<i>Bacillus subtilis</i>	Lys	Thr + Lys, Lys	21, 22
Asparaginic acid semisemialdehyde dehydrogenase	<i>Escherichia coli</i>	Lys		23
Hydroxypicolinic acid 합성효소	<i>Escherichia coli</i>		Lys	24
	<i>Pseudomonas putida</i>			19, 20
	<i>Pseudomonas acidovorans</i>			
	<i>Streptococcus faecalis</i>	Lys		25
	<i>Staphylococcus aureus</i>			26
	<i>Brev. lactofermentum</i>	Leu		27, 28
Dihydroxypicolinic acid reductase	<i>Staphylococcus aureus</i>	Lys		26
Diaminopimelic acid decarboxylase	<i>Escherichia coli</i>	Lys		29
	<i>Bacillus subtilis</i>		Lys	30

Table 4. α-아미노아다퀸산 經路의 調節

酵 素	微 生 物	Repressor	Inhibitor	文 獻
Homocitrate 합성효소	<i>Neurospora crassa</i>	Lys	Lys	31, 32, 33
	<i>Saccharomy cerevisia</i>			34, 35
	<i>Saccharomycopsi lipolytica</i>		Lys	36, 37, 38
	<i>candida pelliculosa</i>			
	<i>penicillium chrysogenum</i>		Lys + Benzyl-penicillin	39

제 3의 Analog 耐性變異株은 佐野 등에 의하여 라이신 아날로그인 S-(2-아미노에칠)-L-시스테인 (AEC) 耐性株로 育種시켰다(Fig. 4).

*Brev. flavum*의 생육은 AEC에 의하여 저해되고 Threonine을 添加하면 더욱 저해가 심하게 일어난다. 이 生育 저해는 라이신을 添加함으로써 回復된다. 이 結果로부터 菌을 變異劑로 처리한 결과 多量の 라이신을 蓄積하는 것을 얻었으며, 그중 아스팔토키나제는 Threonine과 Lysine에 의한 相乘저

해에 대하여 150배의 耐性を 얻었다. 국내 연구결과로는 서 등에 의하여 Thialysine 내성 變異株를 만들어 질소원으로써 Proline을 사용하였을 때와 Ammonium sulfate를 사용했을 때의 흡수속도 및 발효 배양조건을 검토하였다.

최근의 가장 많이 쓰이고 있는 變異株는 第4型인 榮養要求性和 아나로그 耐性を 둘 다 가지고 있는 變異株이다(Table 6 참조).

Table 5. 미생물을 이용한 L-lysine의 생산

Mutant	Microorganism	Genetic markers	Accumulation of lysine-HCl (g/liter)	Ref.
Auxotrophic mutants	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Homoser ⁻	13	40
	<i>Brevibacterium flavum</i>	Thr ⁻ Met ⁻	34	41, 42
Regulatory mutants	<i>Brevibacterium flavum</i>	Thr ^b Met ³	25	43
	<i>Brevibacterium flavum</i>	AEC ^r	32	11, 44
	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>	AEC ^r AHV ^r	29	16
	<i>Candida pelliculosa</i>	AEC ^r	3.2	45
	<i>Pseudomonas acidovorans</i>	AEC ^r	1.8	20
	<i>Escherichia coli</i>	AEC ^r	0.03	46, 47
Auxotrophic regulatory mutants	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>	AEC ^r Ala ⁻ CCL ^r ML ^r	60	48
	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>	AEC ^r Ala + CCL ^r ML ^r	70	49
	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>	FP ^b		
	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	AEC ^r Homoser ⁻ Leu ^r	42	
	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Pant ⁻		50

AEC, S-(β-aminoethyl)L-cysteine; AHV, α-amino-β-hydroxyvaleric acid; CCL, α-chlorocaprolactam; ML, γ-methyl-L-lysine; FP, β-fluoropyruvate; Pant, pantoic acid.

Superscripts: ^r, resistant to compound indicated; ⁻, requires compound indicated; ^b, sensitive to compound indicated.

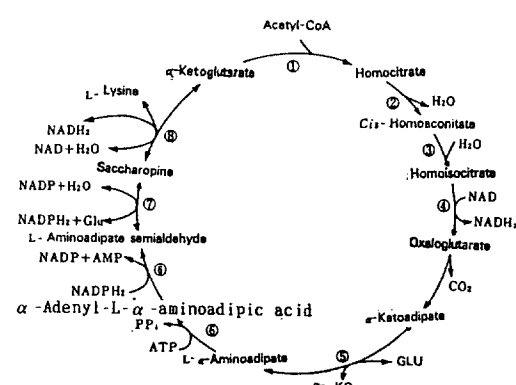


Fig. 3. 酵母, 絲狀菌의 Lysine 生合成 經路(α-아미노 아디핀산 경로). ① Homocitrate synthase ② Homaconitate hydratase ③ Homaconitate synthase ④ Homoisocitrate dehydrogenase ⑤ α-Aminoadipate aminotransferase ⑥ α-aminoadipate reductase ⑦ Aminoadipate semialdehyde dehydrogenase ⑧ Saccharopinedehydrogenase

4. Lysine 醱酵成立의 Mechanism

아미노산 成立原理에 있어서는 椎尾(52, 53), 佐野

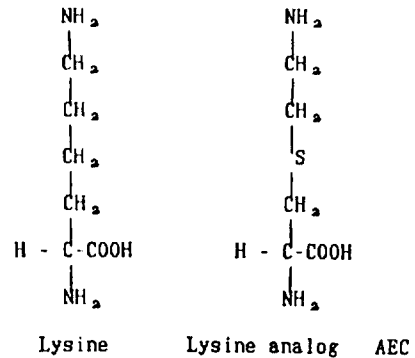


Fig. 4. Lysine 및 Lysine analog AEC

(54, 55) 및 中山(56)에 의하여 잘 說明되고 있다. 라이신 生産菌의 育種은 이 原理에 기초로 行해지며 또 이 原理의 證明에 큰 役割을 한다. 라이신의 過剩生成 기구에 대하여 椎尾의 모델에 따라 기술한다.

4.1 Feed back 制御의 遺傳的 解除

*Brev. lactofermentum*에서는 lysine 단독에 의한 저해가 *Brev. flavum* 보다 훨씬 강하다. 그래서 이 저해를 解除할 目的으로 AHV + Lysine에 耐性的의

Table 6. Lysine 生産菌의 育成 經過

<i>Brevibacterium lactofermentum</i>	Yield of Lysine·
	HCl(%)
AJ1511 (wild)	0
AJ3445 (AEC ^r)	16
AJ3424 (AEC ^r , Ala ^r)	33
AJ3796 (AEC ^r , Ala ^r , CCl ^r)	39
AJ3990 (AEC ^r , Ala ^r , CCl ^r , ML ^r)	43
AJ11204 (AEC ^r , Ala ^r , CCl ^r , ML ^r , FP ^r)	50

AEC, S-(β-aminoethyl)L-cysteine; CCL, α-chlorocaprolactam; ML, γ-methyl-L-lysine; FP, β-fluoropyruvate.

Superscripts: ^r, resistant; ^s, requiring; ^s, sensitive.

變異株, 새로운 Lysine analog로 있는 CCL 및 ML에 耐性的의 變異株가 AEC 耐性株 AJ3445로부터 育種되어 그 代表株가 각각 29 및 43 g/l의 Lysine을 蓄積했다. 前者의 AK는 Threonine + Lysine에 의한 저해 뿐만 아니라 Lysine 단독에 의한 저해에도 抵抗性을 나타냈다. 이런 Lysine에 의한 저해의 解除는 高濃度의 Lysine 蓄積을 目的으로 하는 工業規模에서의 Lysine 醱酵에 있어서 매우 중요한 意義를 갖는다.

4.2 優先 合成의 變換

椎尾는 分支點에서 優先合成이 生合成의 調節機構로 하여 중요한 역할을 하는 것으로 보았다.

Lysine, Threonine 生合成은 그 例로써 *Brev. flavum*에서는 分支點에 있어서 Threonine이 優先 合成된다. 이것은 分支點에서의 Homoserine 脱水素 醱酵(HDase) 활성이 DDP 合成酵素(DDPase)의 활성보다 15배 높은 것으로 推定된다. 따라서 HDase의 활성을 내리면 Lysine 生合成의 制御에 필요한 Threonine 濃度도 低下되어 라이신의 過剩 生産이 일어난다고 생각되어진다.

4.3 Feed back 制御因子의 缺乏에 의한 制御의 解除

Glutamic acid의 生産菌 *C. glutamicum*이나 *Brev. flavum*의 Homoserine 要求株에 의한 Lysine의 生産은 이 原理에 따른다. 즉, 代謝制御를 행한 物質의 菌體내 濃度를 人爲적으로 Control 하기 위하여 營養要求性이라 말하는 性質을 이용하는 方法이 여기에 해당된다.

AK의 Threonine과 Lysine에 의한 相乘저해의 解除를 위해서는 Threonine 濃度를 低下시키면 좋

고 Homoserine 要求性株(HDase 缺損株)에 한정되지 않고 Homoserinekinase(HK) 缺損株에서도 Lysine을 상당량 蓄積했다(41, 42).

4.4 Metabolic Interlock의 解除

生合性 經路로 보아서는 언뜻보기에 관계없이 보이는 代謝生産物에 의한 代謝 制御를 받는 예는 자주 存在한다. 이 調節을 解除하여 生産能을 增加시키는 例는 많다(57). Lysine 生合性 經路上的의 DDPase의 合成은 Leucine으로 억제시킨 것으로서 이것을 利用하여 AEC 耐性的의 Lysine 生産菌에 Leucine 要求性을 代置하여 Lysine 生産能을 18 g/l로부터 41 g/l로 向上시켰다(58).

4.5 前驅物質 供給의 改善과 副反應의 block

*Brev. lactofermentum*의 AEC 耐性 Lysine 生成菌의 菌體내 遊離아미노산 中에는 Alanine의 濃度가 최고로 높다. transaminase 活性을 遺傳적으로 缺損한 Lysine 生産菌은 Alanine 要求性을 나타내어, 그 Lysine 蓄積은 要求性的의 府與에 의하여 18 g/l로부터 최고 39 g/l로 향상되었다. alanine은 그 자신 Lysine 生産을 저해하지 않기 때문에 그 蓄積向上 機構는 Lysine 前驅體의 Pyruvic acid가 副反應의 block에 의하여 浪費되지 않고 有效하게 利用되기 때문에 推定된다.

한편, 過剩의 Biotin(200-500 μg/l)을 培地에 培養하면 Lysine 축적이 顯著하게 향상되는 것을 보았다(59).

Glucose로부터 Lysine의 生合성은 asparagin산의 공급이 律速으로 되어있어 Biotin은 Oxaloacetic acid의 合成을 促進하여 asparagin산의 공급을 향상시켜 Lysine 生合성을 促進하는 것으로 推定된다.

4.6 膜 透過 機構의 改善

*Brev. lactofermentum*의 AEC 耐性 Lysine 生産菌에서의 Lysine 排出은 能動輸送系에 의하여 행해지고 더구나 그 排出은 細胞内 濃度의 5배에 상당하는 배지중의 lysine 濃度에 올라가서 행하여지고 있다(60).

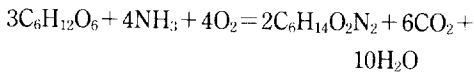
이점에서도 *Brevibacterium*屬 細菌이 *E. coli*나 酵母에 비교하여 lysine 生産菌 育種의 原株로서 有利하다고 말할 수 있다.

*Brev. flavum*을 이용한 L-lysine 醱酵에서 L-lysine 生合成의 Key-enzyme인 aspartokinase가 L-lysine과 L-threonine에 의하여 協奏저해를 받았다(61). 이 저해물질로 있는 L-Lys과 L-Thr의 濃度를

낮게하기 위한 목적으로서 透析培養法을 應用하는 것으로 feed-back inhibition을 輕減하는 것은 野村 등이 확인하였다(62).

5. L-Lysine 醱酵의 展望

Glucose로부터 解糖經路(Embden-Meyerhop-Parnas 경로)에 의하여 Pyruvic acid가 생성되고 Pyruvic acid로부터 Clyoxylic acid 回路에 의하여 Oxaloacetic acid가 생성되고 이것이 아미노화 하여 Asparagin산으로 되어, 라이신에 이르는 과정으로 보아 物質收支, Energy 收支를 計算하여 보면 결국 다음 식과 같이 되어 余분에 高Energy-磷酸 結合은 25개 生成하는 것으로서 菌體, 그 외의 副産物을 無視하는 경우 3分子的 Glucose로부터 2分子的 L-Lysine이 生成되는 것을 알 수 있다.



즉, mole 收率は 66.7%가 理想收率이다. 이것은 菌體 生成을 無視한 것으로 실제 달성하기는 어렵다 하더라도 現在의 收率は 꼭 改善되어야만 할 우리의 과제이다. 다행히 최근에는 여러가지 유전공학 기법들이 활용되어 다른 아미노산과 함께 라이신 生産菌의 育種이 實用化되고 있다는 것이다.

이들의 성공 가능성이 큰 이유로, 첫째는 플라스미드의 安定化에 관한 연구가 활발하고 또 일부는 성공하고 있다는 점이다. 아미노산 生産菌 *Corynebacterium*과 *Brevibacterium*에 존재하는 制限酵素 活性이 떨어진 돌연변이주를 숙주로 하여 安定化와 形質轉換의 向上이 기대되며, 둘째는 아미노산 生産菌의 遺傳子 同定을 간단히 할 수 있게 한 점이다. 이것은 대장균과 *Corynebacterium*의 shuttle vector에 관한 연구에서 서로의 遺傳子를 相互交差 發現시킬 수 있다는 것을 증명함으로써 가능하게 되었으며, 셋째는 아미노산 合成系 이외의 遺傳子를 조작하여 아미노산 생산량을 높이는 연구가 시작됐다는 점이다. 好氣의 代謝 回路에서 에너지나 아미노산의 원료가 되는 中間 代謝物을 합성하는 TCA 回路의 出發酵素인 Phosphoenol pyruvic acid carboxylase의 遺傳子를 *Brevibacterium*에서 클로닝하고 Threonine과 Proline의 생산균에 도입시켜 각각

의 아미노산 數量을 높이는데 성공을 하였다. 한편, 아미노산의 연속발효가 여러 사람들에 의하여 시도됨으로써 생산성을 높이고 있는데, L-lysine에 관한 연구가 국내에서는 상당히 진행되고 있다(63, 64).

앞으로 얼마나 이룬수월에 도달할 것인가 우리 모두가 기대해 볼 만하다.

참고문헌

1. Y. Hirose and H. Shibai: *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, 111 (1980).
2. 福村 隆, 加藤 嵩一: 農化, **54**, 647 (1980).
3. L.D. Wright and E.L. Cresson: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **82**, 354 (1953).
4. B.D. Davis: *Nature*, **196**, 534 (1952).
5. O. Tosaka and K. Takinami: *ibid.*, **42**, 95 (1978).
6. G.N. Cohen, J.-C. Patte and P. Truffa-Bachi: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **19**, 546 (1965).
7. J.-C. Patte, P. Truffa-Bachi and G.N. Cohen: *Biochim. Biophys. Acta*, **128**, 426 (1966).
8. M.S. Shailaja and M.R. Raghavendra Rao: *Indian. J. Biochem. Biophys.*, **12**, 17 (1975).
9. S. Komatsubara, M. Kisumi, K. Murata and I. Chibata: *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 834 (1978).
10. S. Komatsubara, M. Kisumi and I. Chibata: *ibid.*, **45**, 1445 (1983).
11. I. Shio and R. Miyajima: *J. Biochem.*, **65**, 849 (1969).
12. R. Miyajima and I. Shio: *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 424 (1971).
13. K. Nakayama, H. Tanaka, H. Hagino and S. Kinoshita: *ibid.*, **30**, 611 (1966).
14. H. Paulus and E. Gray: *J. Biol. Chem.*, **239**, 4008 (1964).
15. P. Datta and H. Gest: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **52**, 1004 (1964).
16. O. Tosaka, K. Takinami and Y. Hirose: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 745 (1978).
17. M.J.M. Hitchcock and B. Hodgson: *Biochim. Biophys. Acta*, **445**, 350 (1976).
18. M.J.M. Hitchcock, B. Hodgson and J.L. Linforth: *J. Bacteriol.*, **142**, 424 (1980).

19. G.N. Cohen, R.Y. Stanier and G.LeBras: *J. Bacteriol.*, **99**, 791 (1969).
20. M. Hermann, N.J. Thevenet, M.M. Coudert-Maratier and J.-P. Vandecasteele: *Eur. J. Biochem.*, **30**, 100 (1972).
21. H.K. Kuramatsu and S. Yoshimura: *Arch. Biochem. Biophys.*, **147**, 683 (1971).
22. A. Rosmer and H. Paulus: *J. Biol. Chem.*, **246**, (1971).
23. G.N. Cohen and J.-C. Patte: *Cold. Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **27**, 513 (1963).
24. Y. Yugari and C. Gilvarg: *Biochim. Biophys. Acta*, **62**, 612 (1962).
25. D.P. Gilboe, J.D. Friede and L.M. Henderson: *J. Bacteriol.*, **95**, 856 (1968).
26. I.J. Barnes, A. Bondi and A.G. Moat: *ibid.*, **99**, 169 (1969).
27. O. Tosaka, H. Hirakawa, K. Takinami and Y. Hirose: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1501 (1978).
28. O. Tosaka, M. Ishihara, Y. Morinaga and K. Takinami: *ibid.*, **43**, 265 (1979).
29. E. Boy, C. Richaud and J.-C. Patte: *FEMS Microbiol. Lett.*, **5**, 287 (1979).
30. A. Rosner: *J. Bacteriol.*, **121**, 20 (1975).
31. M. Strassman and L.N. Ceci: *J. Biol. Chem.*, **241**, 5401 (1966).
32. R.W. Hogg and H.P. Broquist: *ibid.*, **243**, 1839 (1968).
33. M.E. Maragoudakis, H. Holmes and M. Strassman: *J. Bacteriol.*, **93**, 1167 (1967).
34. A.F. Tucci and L.N. Ceci: *Arch. Biochem. Biophys.*, **153**, 742 (1972).
35. A.F. Tucci and L.N. Ceci: *ibid.*, **153**, 751 (1972).
36. C.M. Gaillardin, L. Poirier and H. Heslot: *Biochim. Biophys. Acta*, **422**, 390 (1976).
37. 竹之内英一, 山本龍男, 田中英彦, 左右田健二: 昭 54 農化大會要旨, p.176.
38. E. Takenouchi, D.K. Nikolova, H. Tanaka, T. Yamamoto and K. Soda: *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, **58**, 371 (1980).
39. P.S. Masurekar and A.L. Demain: *Appl. Microbiol.*, **28**, 265 (1974).
40. K. Nakayama, S. Kitada and S. Kinoshita: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **7**, 145 (1961).
41. K. Sano and I. Shiiro: *ibid.*, **13**, 349 (1967).
42. I. Shiiro and K. Sano: *ibid.*, **15**, 399 (1969).
43. I. Shiiro and K. Sano: *ibid.*, **15**, 267 (1969).
44. K. Sano and I. Shiiro: *ibid.*, **16**, 373 (1970).
45. E. Takenouchi, T. Yamamoto, D.K. Nikolova, H. Tanaka and K. Soda: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 727 (1979).
46. C.M. Gaillardin, G. Sylvestre and H. Heslot: *Arch. Microbiol.*, **104**, 89 (1975).
47. D.M. Halsall: *Biochem. Genet.*, **13**, 109 (1975).
48. 久保田浩二, 戸坂 修, 吉原廉彦, 広瀬義夫: 特公昭 51-19186.
49. 戸坂 修, 森岡 一, 滝波弘一: 昭 54 農化大會要旨, p.176.
50. 中山 清, 荒木和美: 特公昭 56-8692.
51. 서정훈: 산업미생물학회지, Vol.12, No.3, p.241 (1984).
52. 椎尾 勇: 現代化學, No.10, p.8 (1972).
53. I. Shiiro: *J. Ferment. Technol.*, **52**, 63 (1974).
54. 佐野孝之輔: 農化, **50**, 201 (1976).
55. 佐野孝之輔, 百瀬春生: 醱酵と工業, **34**, 422 (1976).
56. K. Nakayama: *J. Ferment. Technol.*, **56**, 425 (1978).
57. F. Yoshinaga, Y. Yoshihara, S. Okumura and N. Katsuya: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **13**, 25 (1967).
58. O. Tosaka, K. Takinami and Y. Hirose: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1181 (1978).
59. O. Tosaka, H. Morioka and K. Takinami: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 1513 (1979).
60. 滝波弘一: 農化大會(昭和 50, 52年), 酸工大會(昭和 51年) 要旨.
61. I. Shiiro and R. Miyajima: *J. Biochem.*, **65**, p.849 (1987).
62. 野村善幸, 岩原正宜 等: 日本農化, **61**, p.959 (1987).
63. 최종규 등: 연속발효 방법에 의한 L-라이신 제조법, 특허출원번호: 91-48.
64. 이재홍, 아미노산 및 핵산 관련물질 심포지움, 한국산업미생물학회 (1990).