

유전공학기술을 이용한 유산균개발

鄭 大 均

울산대학교 미생물학과

I. 序 論

乳酸菌은 우리나라의 김치를 비롯한 발효식품과 서구의 치즈, 요구르트 등의 발효 유제품을 탄생시킨 인류의 역사와 더불어 오랫동안 이용되어 온 가장 有益한 미생물 중의 한 종류이다. 우리나라의 경우 1980년 이후 우유의 소비량이 급속히 증가하고 있고, 특히 80년대 중반 이후에는 유산균을 이용하여 생산한 농후발효유와 치즈 등의 소비 증가가 현저하다. 이와 같이 국민소득 수준의 향상과 함께 발효유제품의 소비증가는 앞으로도 계속될 것이 예상된다¹⁾. 유제품의 수요도 시유나 시유의 단순 가공품이 차지하는 비율은 계속 감소할 것으로 전망되는 반면 액상 또는 호상 형태의 발효유와 각종 치즈의 소비량은 계속적으로 증가하여 2001년에는 이들이 전체 소비량의 16%를 차지할 것으로 예상되고 있다²⁾.

치즈 등 발효유제품들의 인기가 상승함에 힘입어 새로운 타입의 발효유제품들, *Bifidus*균이나 식이섬유 또는 기능성 소당류 등이 보강된 액상이나 호상 요구르트 등이 속속 선보이고 있다. 최근들어 부각되는 유산균 발효 유제품들의 건강증진 효과에 대한 소비자들의 관심 증가도 새로운 제품들의 개발을 촉진시키는 요인이다. 완전한 과학적인 입증은 아직 부족하지만 발효 유제품들의 섭취가 질병들을 치료 내지 예방하는 효과를 준다는 사실은 경험적으로 오래전부터 알려져 오고 있다. *Lactobacillus acidophilus* 단일 균주의 발효로 얻는 *Acidophilus* 우유는 동구 유럽에서는 오래전부터 건강음료로 이용되어 오며³⁾, 고대 문헌을 보면 우리나라에도 고려시대까지 漿水라 불리웠던 쌀을 자연 유산발효시켜 얻은 음료가 널리 소비된 사실을 알 수 있다⁴⁾.

최근까지 유산균의 健康增進 효과를 과학적으로 입증하려는 연구들의 결과로 장내에 유산균이 증식할 경우 관찰되는 유익한 效果들은 다음과 같다. 유산균의 증식으로

인해 설사 등의 원인인 유해균들의 증식이 억제되는데 이것은 유산균들이 만드는 각종 유기산들, 과산화수소에 의한 직접적인 저해나 산생성에 부수되는 pH 저하가 원인이고 그의 유산균들이 만드는 nis인이나 각종 bacteriocin 등도 관여한다⁵⁾. *In vitro* 실험과 동물실험에서 유산균은 각종 암세포의 증식을 저해하는 효과를 보이며⁶⁾, 이외에도 임파구세포를 활성화시키고 γ -interferon의 생산을 촉진함으로써 숙주의 전반적인 면역기능을 향상시켜서 여러 질병에 대한 예방효과를 주는 것으로 추정된다⁷⁾.

유산균의 건강증진 효과를 이용한 새로운 개념의 식품군들도 이미 선진국에서는 등장했거나 또는 개발을 위한 활발한 연구가 진행되고 있고 이들은 치료용 식품 (therapeutic food)이라 분류되기도 한다. 우리나라 보사부가 지정한 22개 건강보조식품에는 유산균 식품이 들어 있으며 이미 시판되고 있는 유산균 정장제들도 소비가 더욱 늘어 나라라 예상된다.

이와같이 유산균을 이용한 발효 유제품의 소비증가, 유산균의 약리작용 효과를 이용한 건강보조식품의 개발 등을 통하여 유산균의 重要性은 더욱 더 대두되고 있다. 이 같은 추세를 반영하듯 전세계적으로 유산균에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 최근에는 생명공학 분야에서 광범위하게 이용되고 있는 유전공학 기술에 의한 유산균의 개발연구가 관심을 모으고 있다. 본 논문에서는 현재까지 진행되고 있는 유산균 연구중 유전공학기술을 이용한 연구결과와 이 분야의 향후 전망 등에 대하여 고찰하고자 한다.

II. 유산균의 cloning system 개발

醱酵 乳製品은 우유에서의 유산균 생육의 결과로 얻어진다. 따라서 양질의 발효 유제품을 얻기 위해서는 유산균의 생리, 유전 및 생태에 대한 지식이 필수적이다. 그러

나 아직까지는 전반적인 유산균 연구의 수준이나 성과는 미미하여 초보 단계에 머물러 있는 실정이고 특히 유전공학 기술을 이용한 유산균 개발연구의 낙후성은 산업적 중요성을 지닌 다른 균들의 발전속도와 비교할 때 더욱 두드러진다.

유전공학 기술에 의한 유산균 연구가 부진한 가장 큰 이유는 실험을 수행하는데서의 다음과 같은 여러 技術的 어려움을 들 수 있다. 첫째로 많은 유산균주들의 경우 유전자 전달 system이나 유전자 cloning system이 없거나 혹 있어도 효율이 극히 낮은 점을 들 수 있다. 이외에 유전학 연구에 필수적인 유용한 변이주들의 걸쭉과 세포내에서의 유전자 재조합 현상이나 외부 DNA에 작용하는 제한효소계등에 관한 기초연구의 부족도 들 수 있다⁸⁾.

그러나, 유산균의 산업적 重要性和 건강증진을 위한 의약품 또는 건강보조식품으로서의 잠재력 때문에 최근 들어 유산균 연구는 선진국에서 더욱 가속화 되고 있으며, 이들 연구를 위한 유전자 cloning vector들의 개발과 효율적인 유전자 전달방법의 개발 및 기존 방법의 개량에 많은 관심들이 몰리고 있다. 이는 균주개량에서 가장 效果的인 방법인 유전공학적 방법을 적용하기 위해서는 먼저 효율적인 유전자 전달 system과 cloning system이 필수적이기 때문이다.

제일 먼저 개발된 유산균용 cloning vector들은 많은 유산균주들에 自然的으로 들어있는 plasmid들의 전체 또는 복제개시점(replication origin)을 포함하는 일부를 기본골격으로 하고 여기에 Gram+균 유래의 Em^r이나 Cm^r을 selection marker로 붙인 것들로 pGK12나 pCK1들이 해당된다^{9,10)}. 또 다른 종류의 vector들은 크기가 30kb 정도로 큰 conjugative plasmid인 pIP501이나 pAMβ1에서 유래된 것들로 pGB301과 pHV1301이 각각 해당된다^{11,12)}.

그러나 이들 cloning vector들은 유산균주의 개량을 위해 사용될 수는 있으나 이들을 지닌 유산균을 식품제조에 바로 사용할 수는 없다. Selection marker인 항생제 내성 유전자들이 食用으로는 부적절하며 또 이들 vector에는 제조과정에서 비유산균에서 온 DNA들이 포함되어 있어서 이들의 안전성 문제가 있기 때문이다. 식품용으로 사용되기 위해서는 vector의 모든 부분이 유산균에서 얻어진 것들이어야 하며 selection marker로 사용되는 유전자들도 항생제 내성 유전자가 아닌 것이 바람직하다. 그러므로,

식품용 vector의 개발에는 적절한 selection marker로 쓸 수 있는 유전자들의 개발이 필수적이다.

식품에 사용할 수 있는 selection marker로서 이용가능한 것이 nisin이다. nisin은 일부 유산균이 생산하는 bacteriocin으로서 독성이 없고 장내에서 분비되는 protease와 장내 미생물에 의해 쉽게 분해된다^{13,14)}. 또한, 식품 부패균과 병원균인 *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Bacillus* 등 Gram (+)균에 강력한 증식저해효과를 나타내, process cheese, sausage, ham 등 여러 식품 등에 보존제로 사용하고 있다^{15,16)}. 이와같이 현재 식품 중에서 사용되고 있는 nisin을 selection marker로 이용하는 cloning vector를 개발한다면, 이것은 인체에 無害한 식품용 cloning vector가 될 것이다.

식품용 vector중에서도 특히 유산균주들의 개량이나 새로운 제품 개발측면에서 개발의 필요성이 높은 것으로 식품용 발현 vector 또는 발현-분비 vector들을 들 수 있다. 외래 단백질 생산을 위한 숙주로 최근들어 유산균을 사용하려는 시도들이 있는데, 이는 GRAS (Generally Recognized As Safe)균으로서 식품에서 인정된 안전성외에도 *Bacillus*와 같이 단백질 분비 기작을 갖고 있으며 혐기성균으로 발효과정이 단순해 배양이 간단한 장점들을 지니기 때문이다¹⁷⁾. 유산균용 발현 vector로 지금껏 보고된 것으로는 van de Guchte 등의 pMG36과 pMG36e¹⁸⁾, Wells¹⁹⁾ 등의 pLET1이 거의 전부이다. pMG36과 pMG36e를 사용해서 *B. subtilis*의 neutral protease 유전자가 *L. lactis* subsp. *lactis* MG1363에서 발현되었다²⁰⁾. Protease의 signal sequence가 유산균에서도 작용해 온전히 processed된 효소가 배지중으로 분비되었으나 효소 양은 *B. subtilis*에서 얻는 양의 1내지 2%에 불과하였다. Wells 등의 pLET1은 T7 RNA polymerase에 기초한 발현 vector로 외래 단백질인 Tetanus Toxin Fragment C의 생산량은 상당한 수준까지 올릴 수 있었으나 T7 발현 system을 위한 2개의 plasmid가 사용될 뿐 아니라 또 pMG36과 마찬가지로 항생제 내성유전자들이 selection marker로 사용되고 있어 식품용으로는 쓸 수 없는 단점들을 지닌다. 따라서 nisin을 selection marker로 사용하는, 강력한 promoter와 효율적인 발현, 분비 system을 갖춘 새로운 식품용 발현, 분비 vector의 개발이 시급한 실정이다.

III. Bacteriophage에 내성을 갖는 유산균의 개발

유산균을 이용하는 산업, 즉 乳加工 産業에는 상존하는 심각한 問題點이 있는데, 그것은 바로 유산균의 생육을 저해시키는 bacteriophage의 감염으로써, 이로 인해 야기되는 심각한 유제품의 생산손실과 그에 따른 막대한 경제적 피해이다. 이와 같은 유가공업체의 심각한 문제점인 bacteriophage의 감염문제를 해결하기 위한 획기적인 방법으로써, 미국 Cornell대학의 Batt 교수 연구팀은 유전공학방법 중의 하나인 antisense RNA 기술을 이용하여 bacteriophage에 저항을 갖는 유산균을 개발하였다^{21,22,23,24}.

Antisense RNA가 생물체 내에서 특정 유전자의 발현과 대사경로를 調節한다는 사실은 1981년도에 처음으로 규명되었다^{25,26}. Tomizawa에 의해 Co1E1 plasmid의 replication이 antisense RNA에 의해 조절됨이 최초로 발견된 이후, IncFII pT181, R6K 등의 plasmid replication, IS10 transposition, bacteriophage P22 antirepressor expression 등 여러 생물체의 유전자 발현기작들도 역시 같은 기작에 의해 조절됨이 규명되었다^{27,28,29}.

이와 같이 自然界 내에서 유전자 발현의 스위치 역할을 하고 있는 antisense RNA 기작을 이용하여, 인위적으로 antisense RNA를 만들어 각자 원하는 유전자의 발현만을 선택적으로 억제함으로써, 식물이나 곤충, 특히 초파리연구에 많이 이용되고 있다. 자연에 존재하는 antisense RNA의 유전자 조절 기작이 밝혀지기 이전인 1978년에, Zamenick과 Stephenson은 화학적으로 合成한 antisense oligonucleotides가 Roud sarcoma virus의 성장을 효과적으로 저해한다는 사실을 발표하였다³⁰.

그로부터 6년 뒤인 1984년, Coleman과 그의 연구팀은 antisense RNA를 만들 수 있는 antisense RNA vector를 개발하여 *E. coli* 유전자의 antisense RNA를 인위적으로 만들었으며, 이를 이용해 그 유전자의 발현을 거의 완전히 저해시켰다³¹. 또한, *E. coli* bacteriophage SP의 복제를 antisense RNA 기술을 이용하여 성공적으로 억제한 연구 결과도 발표되었다^{31,32}.

Antisense RNA 기술의 基本原理는 bacteriophage 유전자의 antisense RNA를 유산균내에서 인위적으로 만들어, bacteriophage의 감염시 bacteriophage 복제에 필요한 유전자의 발현을 막는 일종의 유산균의 예방주사를 개발

하는 것이다(이것을 antisense RNA immune system이라고 한다). Bacteriophage가 유산균에 침입하여 bacteriophage DNA의 transcription이 유산균내에서 시작된 직후 유산균내에 존재하고 있던 antisense RNA와 base-pairing specificity에 의해 RNA duplex를 형성하게 된다. 이 RNA duplex는 ribosome에 의해 translation되지 않고, RNAase III 같은 효소에 의해 급히 분해되는 등의 이유로 인하여 결국 bacteriophage 유전자는 발현이 되지 않는다³³.

Batt 교수 연구팀이 antisense 기술을 이용해 成功한 연구는 antisense RNA로 발현을 저해하고자 하는 bacteriophage 유전자, 즉 目標로 하는 유전자에 따라 두 부분으로 나누어서 진행되었다. 한 목표는 bacteriophage 단백질중 80% 이상을 차지하는 major capsid protein이었고, 다른 목표는 여러 다른 종류의 bacteriophage의 DNA중 서로 비슷한 공통의 DNA sequence (conserved sequence)이었다.

많은 실험과 노력을 통하여 bacteriophage의 genome에서 major capsid protein의 유전자를 찾아냈고, 7년동안 수집 분리한 여러 종류의 bacteriophage가 공통적으로 가지고 있는 1.6 kb *EcoRI* DNA fragment (conserved fragment)를 밝혀냈다. 이상의 目標 遺傳子들을 antisense RNA를 만들 수 있는 antisense RNA vector에 cloning한 후, 유산균에 transformation하여, 유산균내에서 bacteriophage 유전자의 antisense RNA를 인위적으로 생산하였다^{21,22,23,24}.

多年間의 연구 결과 가장 훌륭한 效果를 나타낸 antisense RNA vector는 pSGK1.6R로서, 여러 종류의 유산균 bacteriophage의 conserved sequence인 1.6kb *EcoRI* DNA fragment 전체에 대한 antisense RNA를 만든 것이었다. 이 vector를 가지고 있는 開發된 유산균이 기존의 wild type 유산균보다 bacteriophage에 대해 99% 이상 (EOP=0.004)의 저항능력을 가지고 있음을 보여주었다²⁴. 또한 이 vector는 1.6kb *EcoRI* conserved sequence를 가지고 있는 모든 종류의 bacteriophage에 대하여 같은 效果를 보여 주었다. 결국 한 종류의 antisense RNA vector를 가지고 있는 開發된 유산균이 여러 다른 종류의 유산균 bacteriophage에 놀라운 저항 效果를 보여주는 좋은 結果를 얻었다.

그리고, 일단 bacteriophage가 유산균내에 침입한 후에

도 antisense RNA에 의하여 더 이상의 복제를 할 수 없으므로, 그대로 유산균내에 갇히는 결과가 되어 감염후 일정시간이 지날수록 bacteriophage의 수가 오히려 적감함을 알 수 있었다. 또한, antisense RNA vectors를 가지고 있는 개발된 유산균의 생육속도와 발효능력 등이 기존의 wild type 유산균과 차이가 없음이 확인되어, 새로이 개발된 균주의 實用化 可能性을 더욱 높여주었다^{23,24}).

그러나, 이와같이 개발된 bacteriophage에 놀라운 저항능력을 가진 유산균을 바로 産業體에서 이용하기 위해서는 필수적으로 해결해야되는 다음과 같은 問題點이 야기되었다. antisense RNA를 생성하는 antisense RNA vector의 selection marker가 식품에 첨가할 수 없는 erythromycin이라는 抗生劑의 내성을 이용하였기 때문에, 유전공학적으로 새롭게 개발된 이 균주의 실용화에 制約을 받게 된 것이다. 따라서, 식품에 사용이 가능한 selection marker인 nisin을 이용한 antisense RNA vector를 개발하는 것이 새로운 연구과제라 하겠다.

IV. 유산균을 이용한 有用物質의 生産

유산균은 값싼 배지등을 이용해 산업적으로 대량배양이 용이하고, 독성물질을 분비하지 않는 인체에 무해한 식품 미생물이며, 적당한 배양온도, 낮은 pH에서 자랄 수 있고, 생산물질을 배지로 분비할 수 있는 등, 산업적으로 중요한 유용물질들을 효율적으로 대량생산 할 수 있는 좋은 균주이다. 유산균을 이용해 식품에 첨가가 가능한 즉, 식품 보존제로서 世界的으로 이용되고 있는 nisin을 생산하는 연구들이 진행되고 있다. nisin은 특정 유산균이 생산하는 분자량 3,500Da의 "antibiotics"에 속하는 bacteriocin이다³⁴. nisin은 독성이 없고 장내에서 분비되는 protease와 장내 미생물에 의해 쉽게 분해되며^{13,14}, 식품 부패균과 병원균인 *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Bacillus* 등 Gram (+)균에 강력한 증식저해효과를 나타내, process cheese, sausage, ham 등 여러 식품 등에 보존제로 사용하고 있다^{15,16}.

世界的으로 많은 연구팀들이 nisin 생산과 nisin 저항성에 관해 연구하고 있으며, 유산균의 종류에 따라 nisin 생산과 저항능력 뿐 아니라, 이에 관련하는 유전자가 chromosome상, 또는 plasmid상에 각기 다르게 있다는 결과들

이 발표되고 있다^{16,35,36,37,38}. 이와같은 연구결과를 이용하여 유전자 조작을 통한 nisin 대량 생산 균주개발을 시도하고 있으나, 현재까지 산업적으로 이용될 수 있는 균주는 개발되지 못한 실정이다.

이와같이 유산균이 자연적으로 생산하는 유용물질들을 대량생산하기 위하여 수행되는 기초연구중의 하나가 β -galactosidase에 관한 연구이다. β -galactosidase는 lactose를 단당류인 glucose와 galactose로 분해시키는 효소이다. lactose는 유청에 다량 함유되어 있어 유청 자체가 유당원으로 이용되는 경우가 많은데, lactose는 소화되기 어렵고, 수용성이 낮아 식품에 이용될 때 문제가 된다. 또한 lactose는 다른 당에 비하여 감미도가 낮아 제당, 제과 식품 산업의 이용시 한계점이 따른다. 그러나, 이러한 lactose에 β -galactosidase를 처리하며 이때 생성된 단당류는 감미가 증가하고 용해도도 증가하며 이들은 lactose보다 소화, 흡수율이 높은 장점이 있다. 현재 많은 미생물에서 β -galactosidase가 존재함이 알려져 있으나, 식품미생물인 유산균에서 유전자를 cloning하여 이를 대량생산하면 식품산업에 유용하게 이용될 수 있게 될 것이다.

V. 結 論

현대인의 食品에 대한 요구는 종전의 단순한 음식의 차원에서 벗어나 새로운 맛, 형태, 감촉 등을 추구하고, 더 나아가 건강보조식품 등의 영역까지 이르게 되었다. 이러한 요구에 부응하는 食品産業중의 하나가 바로 乳加工 産業이며, 이 산업에서 가장 중요한 미생물이 바로 乳酸菌이다. 특히, 최근에 치즈, 요구르트를 비롯한 乳製品의 수요가 급증하고 있으며, 유산균의 약리효과등이 발표됨에 따라 유산균의 重要性이 다시 한번 대두되고 있다^{39,40}.

환경오염이 날로 심각해지고 그로 인한 암과 같은 질병의 증가는 건강유지에 대한 일반의 높은 관심을 유발하여 건강보조식품 또는 치료용 식품의 시장규모는 해마다 급속히 증가하고 있다. 유산균은 수천년 동안 인류가 사용해 온 안전한 유용균으로 비단 맛 좋은 발효유제품의 제조에만 사용될 뿐 아니라 여러 기작에 의해 건강을 증진시켜 주는 장점을 지니고 있어 유산균 자체나 또는 유산균을 사용한 발효식품의 수요는 계속 증가할 것이다. 새로운 식품의 개발이나 균주 개발 노력은 더욱 가속화 될 것이고

이를 뒷받침하는 유전공학적 방법들을 위한 식품용 vector 개발은 필수적이다. 식품용 vector의 증가된 필요성이 잘 나타난 예로 선진국들에서 시도되고 있는 유산균을 이용한 live vaccine⁴¹⁾ 개발 노력을 들 수 있다.

여러 기술적 문제들이 아직은 남아있지만 유산균 유전학 연구의 급속한 발전과 기술적 진보들을 고려할 때 가까운 시일내에 유전공학에 의해 개량된 실용화가 가능한 새로운 유산균주들의 출현과 이들을 이용한 새로운 형태의 식품들이 우리의 건강을 지켜줄 것이다.

VI. 參 考 文 獻

1. 한국식품공업협회 조사부, 식품공업, 105, 79-84(1990).
2. 한국유가공협회 편집부, 우유, 49, 61-65(1992).
3. Tamine, A. Y., In *Dairy Microbiology*, Robinson, R. K. (ed.). Elsevier Applied Science, 2, (1990)
4. 김선영, 고려대학교 석사학위논문(1990)
5. Hammes, W. P., Weiss, N., and Holzapfel, W., In *The prokaryotes* (2nd ed.) Balows, A., Truper, H. G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K. H., (eds.) Springer-verlag.(1992)
6. Reddy, G. V., Friend, B. A., Shahani, K. M. and Farmer, R. E., *J. Food Prot.*, 46, 8-12(1983).
7. O'Sullivan, M. G., Thornton, G., O'Sullivan, G. C. and Collins, J. K., *Trends in Food Science & Technology*, 3, 309-314(1992).
8. Van der Vossen, J. M. B. M., Van der Lelie, D. and Venema, G., *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 2452-2457(1987).
9. Kok, J., van der Vossen, J. M. B. M. and Venema, G., *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 726-731(1984).
10. Anderson, P. H. and Gasson, M. J., *FEMS Microbiol. Lett.*, 0, 193-196(1985).
11. Behnke, D., Gilmore, M. S., and Ferretti, J. J., *Mol. Gen. Genet.*, 182, 414-421(1981).
12. Chopin, M.-c., Chopin, A., Rouault, A., and Simon, D., *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 233-237(1986).
13. Liu, W. and Hansen, J. N., *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 2551-2558(1984).
14. Rayman, K. N. and Hurst, A. L., In *Biotechnology of Industrial Antibiotics*, Vandamme, E. J. (Ed), Marcel Dekker, N. T., 607-628(1984).
15. Broughton, J. D., *Food Technology*, 44, 100-112(1990).
16. Buchman, G. W., Banerjee, S., and Hansen, J. N., *J. Biol. Chem.*, 263, 16260-16266(1988).
17. Bojovic, B., Djordjevic, G., and Topisirovic, L., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 385-388(1991).
18. Van de Guchte, M., van der Vossen, J. M. B. M., Kok, J. and Venema, G., *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 224-228(1987).
19. Wells, J. M., Wilson, P. W., Norton, P. W., Gasson, M. and LePage, R. W. F., *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 3954-3959(1993).
20. Van de Guchte, M., Kodde, J., van der Vossen, J. M. B. M., Kok, J. and Venema, G., *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2606-2611(1990).
21. Chung, D. K., Kim, J. H., and Batt, C. A., *Gene*, 101, 121-125(1991).
22. Chung, D. K., Chung, S. K., and Batt, C. A., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37, 79-83(1992).
23. Kim, S. G. and Batt, C. A., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1109-1113(1991).
24. Kim, J. K., Kim, S. G., Chung, D. K., Bor, Y. C. and Batt, C. A., *J. Ind. Microbiol.*, 10, 71-78(1992).
25. Tomizawa, J. and Itoh, T., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 6096-6100(1981).
26. Tomizawa, J., Itoh, T., Selzer, G. and Som, T., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 1421-1425(1981).
27. Inouye, M., *Gene*, 72, 25-34(1988).
28. Simons, R. W. and Kleckner, N., *Annu. Re. Genet.*, 22, 567-600(1988).
29. Simons, R. W., *Gene*, 72, 35-44(1988).
30. Zamecnik, P. C. and Stephenson, M. I., *Proc. Natl.*

- Acad. Sci. USA*, 75, 280-284(1978).
31. Coleman, J., Hirashima, A., Inokuchi, Y., Green, P. J. and Inouye, M. *Nature*, 315, 601-603(1985).
32. Hirashima, A., Sawaki, S., Inokuchi, Y. and Inouye, M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 7726-7730(1986).
33. Weintraub, H. M., *Scientific of American*, 262, 34-39 (1990).
34. Schnell, N., Entian, K. D., Gotz, F., Zahner, H. and Jung, G., *Nature(London)*, 333, 276-278(1988).
35. Klaenhammer, T. R., *Biochemie.*, 70, 337-349(1988).
36. Fuchs, P. G., Zajdel, J., and Dobrzanski, W. T., *J. General Microbiol.*, 88, 189-192(1975).
37. Kaletta, C., and Entian, K. L., *J. Bacteriol.*, 171, 1597-1609(1989).
38. Steen, M. T., Jung, Y. J. and Hansen, J. N., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1181-1188(1991).
39. 김태환, 박장렬, *생물산업*, 6, 34-35(1993).
40. 백영진, 김종민, 임억규, *생물산업*, 6, 23-25(1993).
41. Iwaki, M., Okahashi, N., Takahashi, I., Kanamoto, T., Sugita-Konishi, Y., Aibara, K. and Koga, T., *Infection Immunity*, 58, 2929-2934(1990).

연구회 회비 납부 안내

본 연구회의 회원으로서 1994년도 회비(정회원 10,000원, 학생회원 5,000원, 협찬회원 150,000원, 특별회원 100,000원)를 납부하지 않으신 분은 체신부 부산대학교 우체국(고객번호: 600585-0007896, 가입자명: 최홍식)으로, 무통장 예입영수증을 사용해서서 온라인으로 송금해 주시기 바랍니다. 조속한 시일내에 납부하시어 본 연구회의 운영에 적극 협조해 주시면 대단히 감사하겠습니다.