

Bacillus subtilis(chungkookjang)이 생산하는 아미노산 고분자 폴리감마글루탐산의 용도개발을 통한 바이오 신소재 산업의 창출

박 청 · 성문희

1. 서론

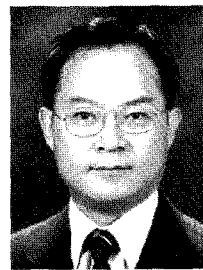
우리나라의 전통 콩발효 식품인 청국장으로부터 분리한 식품미생물 *Bacillus subtilis*(*chungkookjang*)을 이용하여 생산하는 초고분자량 폴리감마글루탐산(poly- γ -glutamic acid, γ -PGA)은 기존의 낫토균이 생산하는 폴리감마글루탐산보다 거대한 분자량으로, 새롭고 다양한 용도개발에 적합하다. 아미노산 고분자인 폴리감마글루탐산은 일본의 콩 발효 식품 낫토에서 분리된 식품미생물 바실러스 서브틸리스가 생산하는 끈적끈적한 점질물로만 여겨져 왔으며 영양학적 측면에서 낫토의 발효상태를 판단하는 기준으로만 여겨오다 응용 가능성과 생합성 및 분해 기작의 기초연구가 진행되면서 물질의 실용성에 주목하기 시작한 신소재이다. 폴리감마글루탐산은 매우 다양한 기능을 가지고 있는 천연 아미노산 고분자 소재로서 최근 건강에 관한 웰빙 문화는 안전한 바이오 신소재를 개발하는데 충분한 사회적 요구를 반영하고 있다. "건강"을 주제로 한 바이오 신약에 대한 기대가 고조되어 새 밀레니엄시대를 주도할 바이오 의약기술에 관한 많은 연구 및 기술개발이 진행되고 "안전" 및 "안심"을 키워드로 한 바이오 신소재에 대한 산업적 관심과 기대가 어느 때보다 높은 시대이다. 신라시대부터 전해져 내려와 현재까지도 건강식품으로 즐겨먹는 청국장은 천년에 걸쳐 그 안전성과 건강학적 효능이 입증되었다고 할 수 있다. 폴리감마글루탐산은 고도의 수용성 및 생분해성을 가진 음이온성 폴리머로서 식품, 화장품, 환경, 의약품 등의 분야에서 이용이 기대되는 바이오 소재이다. 본 특집에서는 청국장에서 분리한 식품미생물 *Bacillus subtilis*(*chungkookjang*)이 생산하는 아미노산 고분자 소재인 폴리감마글루탐산을 소개하고, 대량생산과 용도개발 연구동향 및 실제 산업화의 예를 기술하고자 한다.

2. 본론

폴리감마글루탐산은 글루탐산의 γ -카르복실기와 글루탐산의 α -아미노기가 아마이드 결합된 γ -폴리펩타이드로 콩 발효식품미생물인 *Bacillus sbutilis*가 보유하고 있는 폴리감마글루탐산 합성계

(γ -PGA synthetase complex, pgsBCA system)에 의해서 생성되는 수용성, 음이온성, 생분해성, 및 식용의 아미노산 고분자소재로 고부가가치의 의약품, 화장품, 기능성 식품, 환경용, 공업용 등으로 적용 범위가 매우 다양하다.¹⁻³

폴리감마글루탐산은 **그림 1**의 구조에서 알 수 있듯이 α -카르복실기가 노출되어 있는 음이온성의 고분자로 이러한 α -카르복실기의 형태에 따라 세가지 유형의 폴리감마글루탐산 구조를 가지게 되는데 free-type(I), salt type(II) (M 은 금속이온으로 Na, K, Ca, Fe 등)과 여러 관능기가 부가되어 새로운 성질을 나타내는 유도체 구조(III)가 그것이다. 이러한 폴리감마글루탐산의 수용액상에서 구조는 이온화되어 있는 정도에 따라 다른 형상을 보이며, 이러한 구조적 특성에 대한 연구는 폴리감마글루탐산의 응용성을 증가시킬 수 있을 것으로 보인다.



박 청

1984 고려대학교 농화학과(학사)
1986 고려대학교 농화학과(석사)
1998 일본 교토대학교 농예화학과(박사)
2001 미국 MIT 공과대학, 박사후 연구원
2009~ 한국미생물생명공학회 생물축매분과 위원장
2001~ (주)바이오리더스 사업본부장
현재



성문희

1985 성균관대학교 생명공학부(학사,석사)
1989 일본 교토대학교 농예화학과(박사)
1989~ 한국생명공학연구원(선임연구원, 책임연구원)
2003
1999~ 과기부 국가지정연구실(생물축매기술연구실)
2004 연구책임자
2007 (사) 한국미생물생명공학회 간사장
2000~ (주)바이오리더스 대표이사
현재
2006~ 서울시 바이오소재 산업화 혁신클러스터
총괄책임자
2006~ 한국과학기술원생명공학부
현재

New Bioindustrial Development of High Molecular Weight of Poly-gamma-glutamic Acid Produced by *Bacillus subtilis* (*chungkookjang*)

(주) 바이오리더스 (Chung Park, BioLeaders Corporation, 559 Yongsan-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-500, Korea)
국민대학교 생명나노화학부 (Moon-Hee Sung, Department of Bio & Nanochemistry, Kookmin University, 861-1 Chong-nung-dong, Songbuk-gu, Seoul 136-702, Korea) e-mail: smoonhee@kookmin.ac.kr

2.1 폴리감마글루탐산 생산균주 탐색

“청국장”하면 건강에 좋다는 것은 누구나 잘 알고 있고, 청국장의 건강학적 효능을 경험하면 누구보다도 더한 청국장 애호가 및 애찬가가 되는 것을 주변에서도 흔히 볼 수 있는 일이다. 한국의 “청국장”과 일본의 “나토”는 같은 콩 발효식품이다. 청국장과 나토는 똑같이 콩을 발효한 발효식품으로 제조법이나 발효를 담당하는 발효미생물도 마른 콩에 서식하는 고초균(枯草菌, 청국장이나 된장을 띄울 때 미른 짚을 사용하는 연유에서 기인됨. 현미경으로 보면 긴 막대의 형태를 가지고 있어 *Bacillus* 균이라고 함)으로 똑 같다. 폴리감마글루탐산을 생산하는 한국의 “청국장”과 일본의 “나토”균의 특성을 표 1에 비교하였다.⁴

“청국장”에서 폴리감마글루탐산 생산균주를 얻기 위하여 전국에서 수백종의 청국장이 수집되었으며 그중 고분자량의 폴리감마글루탐산 생산균주가 분리되어 특성 규명과 함께 *Bacillus subtilis*(*chungkookjang*)으로 명명되었다(그림 2). 지금까지 알려진 폴리감마글루탐산 생합성 균주들의 특성과 분자량의 크기를 조사한 결과 우리나라 전통 발효식품 청국장에서 분리한 *Bacillus subtilis*(*chungkookjang*) 균의 폴리감마글루탐산 생산성이 가장 뛰어났으며 분자량도 지금까지 알려진 미생물 생산 폴리감마글루탐산 중 가장 큰 것으로 나타났다.^{4,11-13}

폴리감마글루탐산은 미생물에 의해서 생산되는 양식에 의하여 구분되는데 구성 아미노산인 글루탐산의 두 이성질체(*D*-glutamic acid,

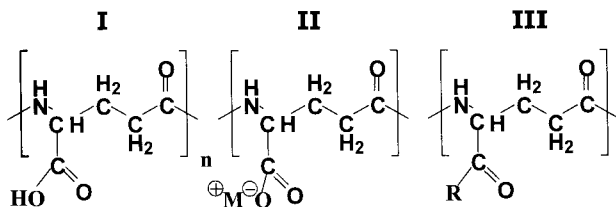


그림 1. α -카르복실기의 형태에 따른 폴리감마글루탐산 구조.

표 1. 폴리감마글루탐산 생산균주 *Bacillus subtilis*(*chungkookjang*)과 *Bacillus subtilis*(*natto*)의 주요특성 비교

	Chungkookjang	Natto
Salt resistant (12%)	+	-
PGA degradating activity	-	+
Plasmid	-	+
Spore formation	Very low	High
PGA production type	Glutamate dependent	Glutamate independent
Molecular weight (kDa)	> 2,000	~1,000

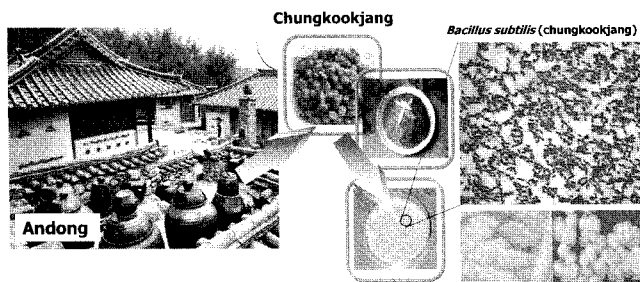


그림 2. 폴리감마글루탐산 생산균주 *Bacillus subtilis*(*chungkookjang*)의 분리.

L-glutamic acid)의 구성비에 따라 100% *L*-glutamic acid의 폴리감마글루탐산을 생산하는 *Natrialba aegyptiaca*, *Bacillus halodurans*와 100% *D*-glutamic acid로 구성된 폴리감마글루탐산을 생산하는 *Bacillus anthracis* 그리고 *D*-glutamic acid, *L*-glutamic acid가 모두 혼합되어 있는 폴리감마글루탐산을 생산하는 *Bacillus licheniformis*, *Bacillus magaterium*, *Bacillus subtilis* 등이 보고되어 있다. 또한, 폴리감마글루탐산 생산균주는 영양요구성에 따라 크게 두 종류로 구분되는데, 첫 번째 그룹은 폴리감마글루탐산 생산성을 증가시키기 위하여 배지 내에 *L*-glutamic acid를 첨가하는 glutamic acid 의존성 균주(*B. subtilis chungkookjang*, *B. anthracis*, *B. licheniformis* ACTC 9945A, *B. subtilis* IFO 3335, *B. subtilis* F-2-01), 두 번째 그룹은 배지 내에 *L*-glutamic acid의 첨가가 필요 없는 glutamic acid 비의존성 균주(*B. subtilis* 5E, *B. subtilis* TAM-4, *B. subtilis* A35)로 구분된다. 폴리감마글루탐산을 구성하는 *D*-glutamic acid는 균체의 대사과정에서 생성되어 폴리감마글루탐산 중합에 사용된다. 대표적인 폴리감마글루탐산 생합성 과정을 그림 3에 나타내었다.² 폴리감마글루탐산 생합성 과정에서 racemase, aminotransferase, glutamate dehydrogenase 등의 효소작용으로 공급되는 *D*-and/or *L*-glutamic acid가 세 종류의 막 단백질(PgsB, PgsC, PgsA: γ -PGA synthetase complex, pgsBCA system)에 의하여 폴리감마글루탐산으로 중합되고 세포밖으로 분비된다. PgsB는 세포막의 안쪽에 위치하여 글루탐산의 연결에 관여하고, PgsC는 세포막에 위치하여 고분자량의 폴리감마글루탐산 폴리머를 세포밖으로 내보내는 통로 역할을 하는 단백질로 추정되며, PgsA는 폴리감마글루탐산을 직접 세포밖으로 수송하는 transport의 역할을 한다.¹⁵⁻⁷

Bacillus subtilis(*chungkookjang*)균은 Nitrate reduction을 하지 못하며, Indole을 생성하지 않는다. Gelatin과 starch을 분해하며, β -galactosidase와 β -glucosidase활성이 양성이며, oxidase 활성을 가졌다. 또한, Urease를 생산하며, glycerol, galactose, glucose, sucrose, maltose, starch을 이용할 수 있는 것으로 나타났다. 16S rDNA의 유전자 염기서열 분석을 실시하여 종래 보고된 여러 미생물의 16S rDNA 염기배열과 상동성을 비교한 결과, *Bacillus subtilis*와 99.0% 상동성을 나타내었다. 하지만, 기존의 *Bacillus subtilis* 종들과는 달리 Co^{2+} 등의 2가 양이온의 첨가에 의해서도 spore 형성이 잘 유도되지 않는 특성을 가지며, 기존의 폴리감마글루탐산 생산균주들과는 달리 plasmid를 보유하고 있지 않는 특성을 가지고 있다(표 1).^{4,8}

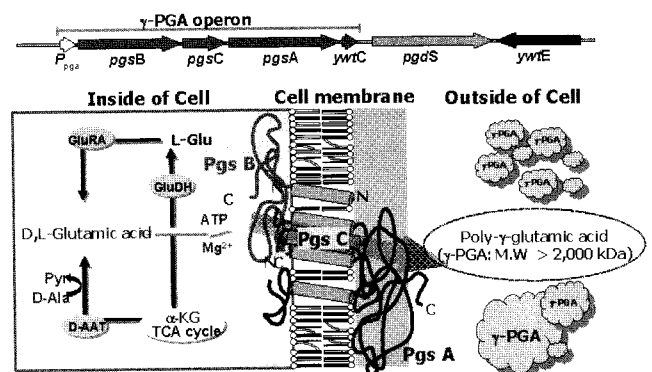


그림 3. *Bacillus subtilis*(*chungkookjang*)의 폴리감마글루탐산 생합성.²

2.2 고분자 폴리감마글루탐산의 대량생산

청국장에서 유래하여 GRAS 식품 미생물로 그 안전성이 확보된 *Bacillus subtilis* (*chungkookjang*)은 고분자의 폴리감마글루탐산을 생산한다. 그러나, 더욱 중요한 점은 산업화를 위한 효율적인 공정개발 및 산업적 범용화를 위한 가격 경쟁력이 필수적으로 요구된다고 하겠다. 이는 국내외에 출원되고 있는 폴리감마글루탐산 관련 특허의 절반 이상이 생산균주 및 공정개발에 치중되어 있는 이유이기도 하다. 우리나라 전통 콩 발효식품인 인동 지방의 청국장에서 분리된 생산균주 *Bacillus subtilis* (*chungkookjang*)은 폴리감마글루탐산의 원료물질인 아미노산 L-glutamic acid를 필요로 하는 글루탐산 의존성 생산균주로서 기존의 *Bacillus subtilis* (*natto*) 같은 글루탐산 비의존성 생산균주에 비하여 발효기간이 짧으며 생산된 폴리감마글루탐산의 평균분자량은 발효액 중에서 수천만 Da 수준으로 생산된다. 이와같은 고분자량의 생산은 정제공정인 다운스트림에서의 수 많은 공정상의 어려움을 내포하고 있는 것으로, 점성이 높은 발효액으로부터의 균체제거 공정이 첫 관문임을 알 수 있다. 한국의 (주)바이오리더스는 세계 최초로 초고분자량의 폴리감마글루탐산 대량생산 공정을 확립하여 2007년도 대한민국 기술대상을 수상하고 10대 신기술에 선정되었다(그림 4). 평균분자량 2,000만 Da 이상의 폴리감마글루탐산 생산성은 발효액 L당 30-35 g의 고생산성에 도달하였으며 정제 회수율도 90% 이상의 높은 회수 정제 공정기술을 개발 완료하여 확보하고 있다.² 아울러 고분자 폴리감마글루탐산의 물질특허(초고분자량의 폴리감마글루탐산 및 그의 이용방법, 대한민국등록 10-0399091, 러시아 특허등록 RU 2 281 958 C2, PCT 특허출원 PCT/KR03/01369)를 바탕으로 지속적인 고부가가치의 의약품, 화장품, 기능성 식품, 환경용 소재개발로의 응용개발이 진행 중이다.⁹

폴리감마글루탐산을 생산하는데 있어서, 각각의 목적에 부합되도록 그 제조법상의 기술 차이를 보이고 있으며, 주로 *Bacillus*속 균주인 *B. subtilis* (*chungkookjang*), *B. subtilis* (*natto*) 및 *B. licheniformis* 등의 미생물의 배양액으로부터 제조하는 공정이 대부분을 차지하고 있다. 또한, 폴리감마글루탐산의 활용범위가 다양해짐에 따라, 폴리감마글루탐산의 생산성을 높이고자 하는 배지성분, 배양조건 및 분리방법에 대한 연구도 활발히 진행되고 있으며, 폴리감마글루탐산과 같은 바이오 폴리머의 물성을 개량하기 위하여 각각 다른 분자량이 요구되는 이유는 바이오 폴리머의 물성이 분자량에 크게 의존하기 때문이다.

폴리감마글루탐산은 상업적으로는 일본, 대만의 몇 개의 회사들이 생산하고 있으며, 일본 및 대만, 중국의 생산균주가 *Bacillus subtilis* (*natto*)인 관계로 인하여 고분자량의 폴리감마글루탐산 제조가 불가능하여 최근에 폴리감마글루탐산 분해계에 관한 연구를 하고 있으며,

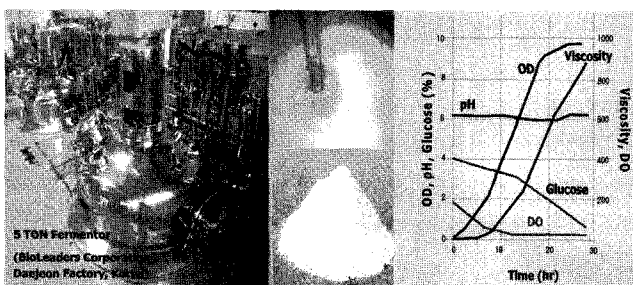


그림 4. 고분자 폴리감마글루탐산(2,000 kDa 이상)의 대량생산.²

생산 및 이를 이용한 제품개발에 한계가 있다(표 2). 한편, 폴리감마글루탐산 생합성에 필요한 글루탐산의 산업 생산균주인 *Corynebacterium* 속 세균을 이용한 초고분자량의 폴리감마글루탐산 생산 방법도 검토되고 있다.²

2.3 용도개발 및 산업적 적용

폴리감마글루탐산은 식품 유래의 천연소재로 원천적으로 적용 안전성이 확보되어 있으며, 구성 아미노산인 글루탐산의 카르복실기의 구조적인 특징으로부터 음이온성 고분자로 분류된다. 이는 분자량이 커짐에 따라 유리의 카르복실기수가 커짐으로 인하여 보다 많은 양이온 미네랄과 반응성이 높아져 효과적인 전달체의 역할을 수행하게 하는 이유이다. 또한, 킬레이션 기능으로 수처리용 응집제의 연구개발이 산업화되고 있으며, 고도의 친수성 고분자로 물을 흡수하는 능력이 뛰어나 중점 안정제로 화장품에서 훌륭한 보습소재로, 분자량에 따라 다른 물성을 나타내어, 새로운 용도개발 및 다양한 산업적 적용이 가능하게 되는 것이다. 식품, 화장품, 환경 등의 분야에서 그리고 최근에는 효과적인 약물전달체 및 의학적 분야의 기초연구에서 응용연구에 이르기 까지 그 개발 전제가 매우 기대되는 바이오 신소재이다.^{2,3,10}

2.3.1 식품 및 건강기능식품

식품용 폴리감마글루탐산은 물에 잘 녹으며, 생분해성을 가지고, 식용 가능하며, 수 천년간 먹어온 청국장의 성분으로 사람에게 독성이 없는 안전한 소재이다. 식품산업에서 음이온성 및 서방성 물성을 이용하여 미네랄 흡수촉진 보조제로 사용할 수 있다. 폴리감마글루탐산은 소장에서 칼슘이 인과 결합하여 불용성이 되는 것을 저해하고 칼슘의 흡수를 촉진시키는 것이 확인되어 국내의 유가공 제품에도 도입되고 있다(그림 5).¹⁴⁻¹⁶

최근 폴리감마글루탐산의 활용가능성이 다양하게 제시됨에 따라 종래 고가의 폴리감마글루탐산 제조방법상의 문제점을 극복하여 그 활

표 2. 국내외 폴리감마글루탐산 생산기술 현황



주요 업체	생산 균주	분말 특성	용도 특성	분자량	사업추진 현황
마치노모토	<i>B. subtilis natto</i>	없음	식품분야 집중	저분자량	일본(인공 근육의 촉진 (마치노모토 100주년))
메이지	<i>B. subtilis natto</i>	없음	식품 및 환경분야 중 다양한 용도	저분자량	일본의 D-성분 추진 (마치노모토 사업 제휴)
바이오리더스	<i>B. subtilis chungkookjang</i>	분말 (고분자량 물질특허)	식품, 화장품 용도 * 다양한 고부가가치 용도 (의약품 등)	고분자량 저분자량	세계 최고 기술로서의 경쟁력 강화 (한국, 일본, 중국, 인도네시아) 용도기술 및 가격경쟁력을 바탕으로 한국내시장 확대 및 일본 시장 진출

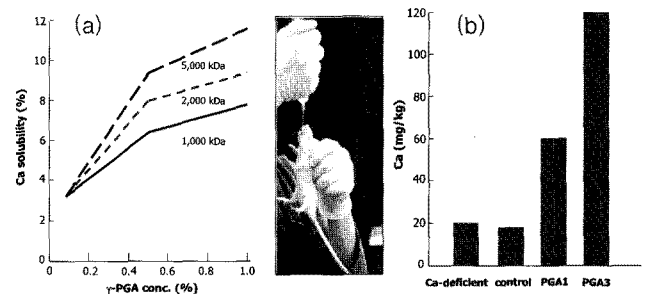


그림 5. 폴리감마글루탐산의 칼슘 용해효과 (a) 및 소장에서의 흡수효과 (b).

용범위를 넓히고자 하는 패러다임의 변화로, 이들 용도로는 전해질 수용액, 전기 점성 유체, 섬유 또는 필름의 재료, 칼슘이온 용해제, 칼슘흡수 촉진제, 수분 흡수제, 사료첨가물, 식품의 선도 유지제 및 제과 제빵원료의 첨가제로 범위가 다양하다.^{2,3,10}

폴리감마글루탐산의 이용에 대한 연구는 식품의 농축, 보습제, 고미 제거제, 냉해 방지제, 동물 사료 첨가제 등에서 활발히 진행되어왔는데, 식품에 있어 잦은 냉동과 해동은 제품의 품질을 하락시키는데, 이러한 품질 하락을 억제시키기 위해 냉해 방지제가 사용되고 있다. 최근 그 물질의 결속 효과(colligative effect)에 의해 수백 배의 antifreeze activity를 가지는 몇몇 antifreeze proteins (AFPs) 들이 보고되고 있고 그러한 효과는 단백질이 가지고 있는 peptide의 acidic 아미노산 잔기의 sodium salt 들에 기인한다고 설명되고 있다. 이와 마찬가지로, *Bacillus*에 의해 생산되는 폴리감마글루탐산 역시 우수한 antifreeze activity를 가진다는 것이 Soda 등에 의해 연구되었다(그림 6).^{17,18} 폴리감마글루탐산은 일반적으로 사용되는 당이나 무기염, 아미노산 등의 저분자의 냉해 방지제 보다 맛이 약하기 때문에 냉동식품산업에 있어 효과적이며 식품의 맛에 영향을 주지 않으므로 많은 양이 사용될 수 있다.¹⁹

2.3.2 고도의 보습효과 및 항염기능의 화장품소재

고분자량 폴리감마글루탐산은 기존의 보습소재인 히알루론산보다 뛰어난 보습력을 가지고 있으며(그림 7),²⁰ 천연보습인자(NMF; Natural Moisturizing Factor)의 활성화 기능을 가지고 있다. 히알루론산은 생분해성 바이오소재로서 폴리감마글루탐산과 같은 성질과 응용성을 가지고 있으나 아직 제품 가격면에서 응용소재화의 용도 확대

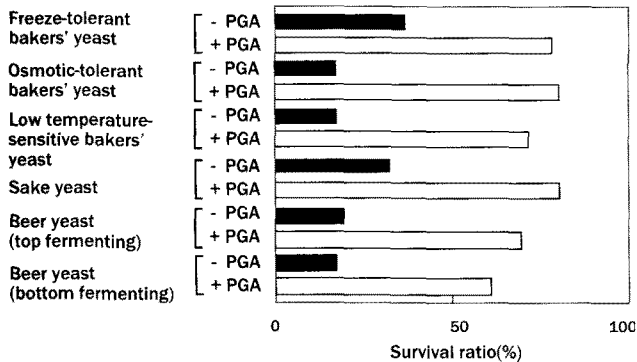


그림 6. 각종 냉동효모의 생존율에 미치는 폴리감마글루탐산의 효과.¹⁷

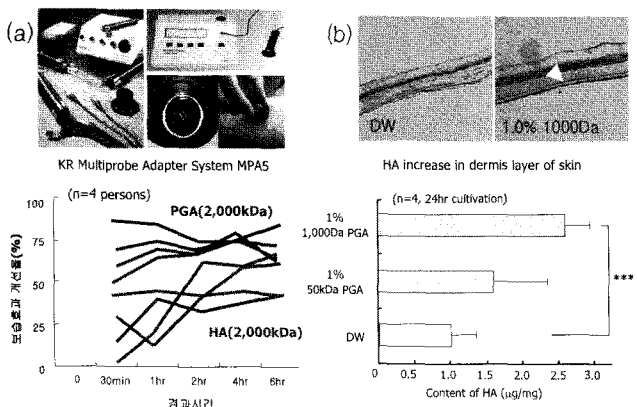


그림 7. 폴리감마글루탐산의 고보습성 (a) 및 진피 히알루론산 농도 유지효과 (b).^{22,23}

가 어려움이 있다. 또한, 피부 조직내 히알루론산은 히알루론산 분해 효소에 의하여 분해되고 피부주름의 한 원인이 된다. 폴리감마글루탐산은 히알루론산 분해효소의 활성을 저해하고, 특히 저분자 폴리감마글루탐산은 피부를 투과하여 피부내 히알루론산 농도가 유지되어 건강한 피부상태를 유지하는 기능성을 알게 되었다.²¹⁻²³ 그 뿐만 아니라, 히알루론산 분해효소의 활성화로 인해 일어나는 피부 조직의 파괴 및 염증을 억제하는 기능이 있어 민감하고 스트레스성 피부염에 이상적인 기능성 보습소재로 주목 받고 있다.²⁴

2.3.3 수처리용 응집제

현재 대부분의 산업폐수는 1차 금속제조업에서 60% 이상 발생하고 있는데, 주 오염물질은 부유물질 및 중금속이며 유기오염물질은 거의 존재하지 않으므로 주로 고분자 응집제를 이용한 화학적 처리방식이 보급되어 있는 실정이다. 고분자 응집제는 제조 프로세스에 사용되기도 하지만 대부분 폐수처리와 하수처리장 및 분뇨처리장에 이용되고 있다. 각 업종마다 배출되는 폐수의 오염물질 종류는 다르지만 고분자 응집제는 대부분의 오염물질을 처리할 수 있다. 고분자 응집제는 정수처리뿐만 아니라 폐수가 많이 배출되는 제지, 피혁, 주정, 염색업체 등의 폐수처리용 시장비중이 크고, 점차로 수질오염 및 공해방지 등에 대한 인식이 높아지고 있어 고분자응집제 수요는 꾸준히 증가하고 있다(그림 8).²⁵

폴리감마글루탐산은 환경에 무해한 친환경적 소재이기 때문에 기존의 응집제보다 안전하게 이용할 수 있고 응집제 또는 응집보조제로서 생물학적 수처리 과정의 효율을 향상시킬 수 있다.²⁶ 고분자량의 폴리감마글루탐산을 사용하여 하수 유입수에 투여한 후 화학적 산소요구량(COD), 부유성 고형물(SS) 등의 농도를 측정할 결과 COD의 농도를 최고 63%까지 저감시킬 수 있었으며, SS 역시 폴리감마글루탐산을 50 mg/L의 농도로 투여시 78%의 제거율을 얻을 수 있었다(그림 9).²⁷ 일본의 경우 폐수처리기술의 발달로 산업폐수처리에 사용되는 중성 및 음이온계의 수요는 정체된 반면 오수, 생활하수처리에 사용되는 양이온계 응집제의 수요는 급증하고 있다. 폴리감마글루탐산 가교수지를 사용한 수질정화용 액체를 개발하여 액체 조성성분인 알루미늄이 수질오염의 주요 원인인 미생물, 토양 등과 함께 전기적으로 결합하여 딱딱한 고형분을 형성하고, 다음으로 PGA 가교수지가 이들 고형분을 다수 끌어당겨 결합하여 그 중량의 증가로 인하여 침전하게 된다. 침전시간이 단축되고 침전물의 제거가 용이하며, 생분해성을 가지고 있어 일주일 전후로 미생물에 의하여 분해가 되는 기술이다. 우리나라는 일본보

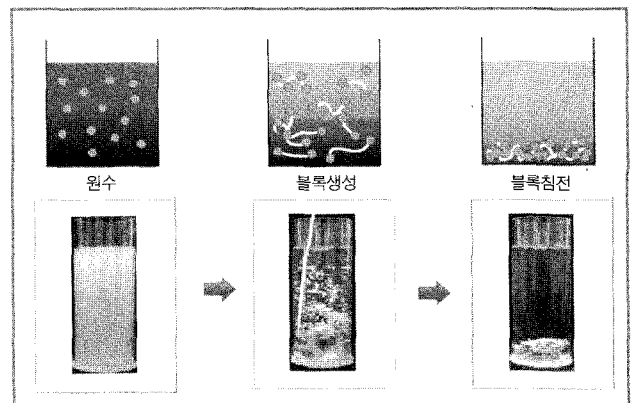


그림 8. 폴리감마글루탐산의 응집효과 모식도.²⁵

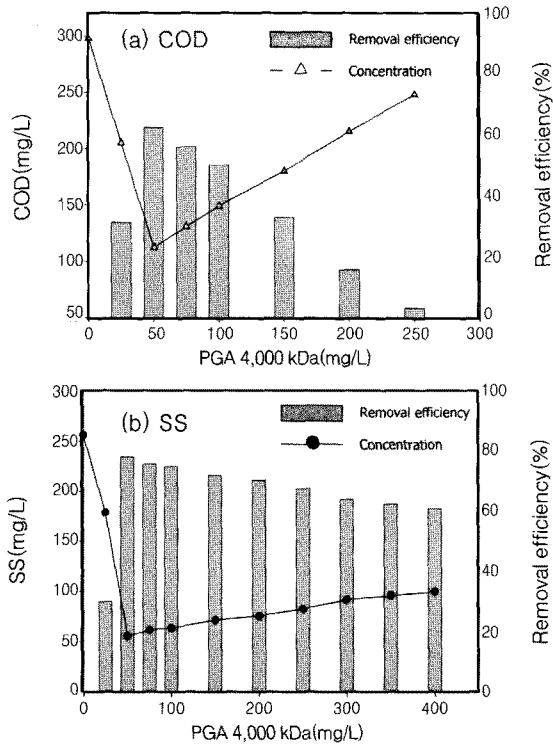


그림 9. 하수의 COD (a), SS (b) 저감효율에 미치는 폴리감마글루탐산 농도 효과.²⁷

다도 기술적으로 다양한 고분자를 사용함으로써 기술우위의 공정을 국내에 적용가능하고, 수출도 가능할 뿐만 아니라 거대분자량의 폴리감마글루탐산에 관한 물질특허를 등록하고 있어 우선적으로 소재사용이 가능하고, 수반되는 개발비용을 최소화할은 물론, 다양한 분자량에 의한 공정개발로 고분자 환경친화형 응집제개발에 어느 기술보다도 경제적이고, 고효율이 보장된 처리기술을 확보할 수 있다.

2.3.4 고분자 폴리감마글루탐산의 항암능 유도

청국장을 과학적 바이오 식·의약소재라고 하는 것은 청국장을 먹고서 암에 대한 치료 및 증상 개선효과를 보았다는 암환자들의 투병기를 기초로 하여 청국장의 어떤 성분이 항암효능에 관여하는가에 대한 연구가 수행되었다. 놀랍게도 청국장의 끈적끈적한 실의 주성분인 폴리감마글루탐산이 항암효능을 가지고 있다는 사실을 발견하였다. 암을 유발시킨 실험동물에 경구로 폴리감마글루탐산을 투여할 경우, 폴리감마글루탐산은 소장의 점막세포에 분포되어 있는 면역세포를 먼저 활성화시켜 인터페론-감마와 같은 생리활성단백질을 분비하게 하여 궁극적으로 암세포만을 공격하는 자연살상세포(Natural Killer Cell, 혈액내 백혈구의 일종으로 인간 골수에서 생성되어 암세포를 직접 파괴하는 면역세포)를 활성화하여 항암 면역기능을 가지는 것을 확인하였다(그림 10).²⁸

마우스모델에서 *Bacillus subtilis* (*chungkookjang*) 균 유래의 고분자 폴리감마글루탐산의 항암능을 연구하였다. 베타글루칸과 비교적 저분자인 폴리감마글루탐산을 투여한 경우보다 2,000 kDa의 폴리감마글루탐산을 투여한 마우스에서 자연살상세포의 암세포 파괴능과 인터페론 감마분비가 현저히 증가됨을 보였다. 또한, 실제 암세포를 주입하여 본 결과, 피부암과 자궁경부암 등의 크기가 감소하였다. 특히, 이런 효과는 암세포의 면역회피현상 중에 하나인 MHC 발현이

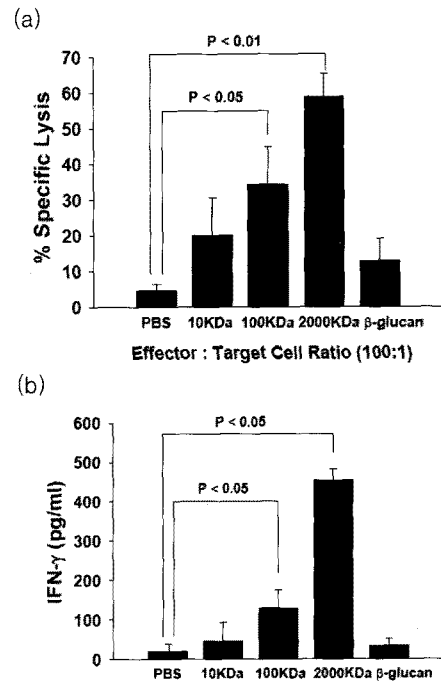


그림 10. 고분자 폴리감마글루탐산에 의한 NK 세포 활성화 (a) 및 IFN- γ 유도 (b).²⁸

감소된 암에서 현저히 나타났다. 자연살상세포가 결핍된 쥐에서는 2,000 kDa의 폴리감마글루탐산을 투여한 마우스에서 암세포 감소 현상이 사라지는 것으로 보아서 고분자 폴리감마글루탐산의 항암능이 자연살상세포를 매개로 함을 재확인 하였다. 이와 같은 폴리감마글루탐산의 항암 연구결과로 세계적으로 한국 청국장의 끈적끈적한 실의 효능을 알리게 되었다. 또한, 최근에는 폴리감마글루탐산의 항암 면역 기구의 상세한 연구 성과도 보고되었다(그림 11).²⁹

2.3.5 폴리감마글루탐산 나노파티클

폴리감마글루탐산과 키토산 나노파티클은 소수성 약물이나 단백질의 운반체로 경구 전달을 용이하게 하여 유용단백질 및 항원의 인체 내에서의 효능을 증대하였다(그림 12). 유용단백질 및 항원운반체는 약물전달시스템(drug delivery system)의 한 부분으로 기존 의약품의 부작용을 최소화하고 효능 및 효과를 극대화시켜 필요한 약물을 효율적으로 전달시키고자 설계한 제형을 말한다. 이러한 약물전달시스템 기술은 1970년대부터 선진국들이 첨단기술을 동원하여 활발히 연구하고 있는 분야로서 특히 1987년 물질특허제도가 도입됨에 따라 국내 제약회사들이 평균 15년의 기간과 2억달러 이상의 비용이 소요되는 신약개발보다는 기존 약물의 단점을 개선한 약물전달시스템 제품 개발이 기간과 비용 측면에서 30% 이상 단축되고 성공 확률도 매우 높다는데 착안하여 많은 연구를 하고 있다. 폴리감마글루탐산과 키토산 나노파티클의 젤화는 상온 상압의 일반적 조건하에서 이온결합에 의하여 얻어질 수 있는데, 반응물의 조성을 변화함으로써 여러 가지 제타 포텐셜과 다양한 크기의 입자를 얻을 수 있게 되었으며, 여러 가지 모델 시스템이 개발되었다.^{30,31}

약물전달시스템을 위해 사용되어지는 수단으로는 피부를 통해 약물을 전달하는 패치 제조기술과 인체내 특정부위에만 효력을 갖도록 지질 마이크로캡슐 제조기술, 비수용성 약물을 주사액으로 만드는 기술 및 고체 분산체, 나노입자의 특징을 이용한 나노입자 제형, 젤체,

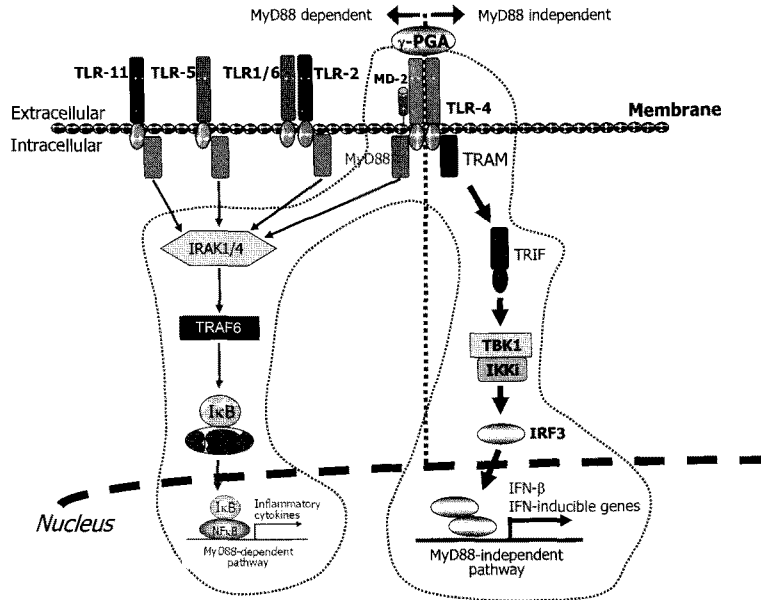


그림 11. 고분자 폴리감마글루탐산에 의한 TLR-4매개 면역기전.

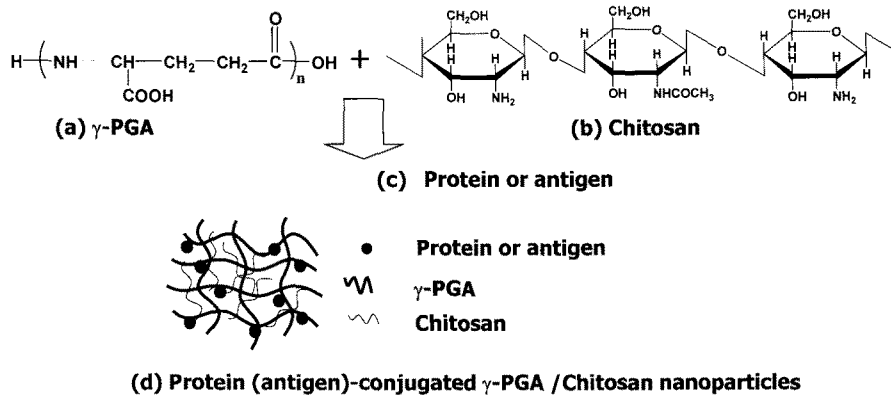


그림 12. 폴리감마글루탐산 키토산 나노파티클.

리포좀, 마이크로에멀전 등의 기술로 연구되고 있다. 그 중에서도 폴리머 나노파티클 제형이 약물전달시스템의 운반체로서 많은 연구들이 진행 중에 있으며, 특히 poly-ε-caprolactone, polylactide와 같은 생분해성 고분자물질을 사용한 연구들이 많은 관심을 가지고 있다. 하지만, 이러한 소수성 고분자물질들은 친수성인 약물에는 적합하지 않은 단점을 가지고 있어 친수성이면서 생분해성인 폴리감마글루탐산과 키토산의 단순한 이온-겔화 방법으로 제조된 폴리감마글루탐산과 키토산 나노파티클의 유용단백질 및 항원의 운반체로서 제형이 주목 받고 있다.^{32,33}

3. 결론

아미노산 고분자 폴리감마글루탐산을 안전성이 보장된 식품 미생물에서 대량생산하고 초고분자량의 용도개발로 새로운 산업적 응용이 가능해 졌다. 효율적인 약물 전달체의 개발, 나노섬유 등 특수용도의 연구이외에, 최근 청국장의 폴리감마글루탐산은 인플루엔자 바이러스에 효과적으로 억제 작용하는 인터페론-알파 및 인터페론-베타와 같은

생리활성 단백질도 분비한다는 사실이 밝혀지고, 팬데믹 인플루엔자 대응 국가과제의 연구수행을 통하여 확인되어 신종 인플루엔자 바이러스 감염억제 물질로의 개발을 서둘러 진행하고 있다. 또한, 전 세계의 재앙으로 예견되는 팬데믹 인플루엔자에 조속한 대응이 가능한 구강 청결제 및 손 세정제와 같이 개발이 쉬운 바이러스 감염억제 제품으로서의 활용여부도 연구 중에 있으며, 제품개발의 완료 및 식약청 건강기능식품 인허가 승인과 의학적 효능을 발휘할 수 있는 먹는 의약소재의 점진적인 개발을 통하여 한국의 청국장의 끈적끈적한 실의 놀라운 위력을 전 세계에 알릴 수 있으리라는 자부심으로 바이오 식·의약소재 연구가 진행되고 있다. 지속적인 응용, 용도개발과 함께 폴리감마글루탐산은 선도 바이오 핵심소재로서 새로운 시장을 창출할뿐 아니라 우리나라 바이오 경쟁력 제고에 공헌할 것으로 기대된다.

감사의 글: 본 연구는 2009년도 서울특별시 산학연 협력 사업 및 2009년도 국민대학교 리서치 펀드의 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

1. M. Ashiuchi, C. Nawa, T. Kamei, J. J. Song, S. P. Hong, M.-H. Sung, K. Soda, T. Yagi, and H. Misono, *Eur. J. Biochem.*, **268**, 5321 (2001).
2. M. H. Sung, C. Park, C.-J. Kim, H. Poo, K. Soda, and M. Ashiuchi, *Chem. Rec.*, **5**, 352 (2005).
3. J. M. Buescher and A. Margaritis, *Crit. Rev. Biotechnol.*, **27**, 1 (2007).
4. M. Ashiuchi, T. Kamei, D.-H. Baek, S.-Y. Shin, M.-H. Sung, K. Soda, T. Yagi, and H. Misono, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **57**, 764 (2001).
5. C. Anagostopoulos and J. Spizzen, *J. Bacteriol.*, **81**, 741 (1961).
6. S. S. Eveland, D. L. Pompliano, and M. S. Anderson, *Biochem.*, **36**, 6233 (1977).
7. J. A. Bertrand, G. Auger, L. Martin, E. Fanchon, D. Blanot, D. Le Beller, J. van Heijenoort, and O. J. Dideberg, *J. Mol. Biol.*, **289**, 579 (1999).
8. Patent KR0500796 (2005). JP3999514 (2007). USA7091010B2 (2006).
9. Patent KR0399091 (2003). RU2281958C2 (2005). ZL03815769.1 (2007).
10. I.-L. Shih and Y.-T. Van, *Bioresouece Technol.*, **79**, 207 (2001).
11. C. Park, J.-C. Choi, Y.-H. Choi, H. Nakamura, K. Shimonouchi, T. Horiuchi, H. Misono, T. Sewaki, K. Soda, M. Ashiuchi, and M.-H. Sung, *J. Mol. Catal. B Enzyme*, **35**, 128 (2005).
12. M. Ashiuchi, K. Shimonouchi, T. Kamei, K. Soda, C. Park, M.-H. Sung, and H. Misono, *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 4249 (2004).
13. S. E. Kang, J. H. Rhee, C. Park, M.-H. Sung, and I. Lee, *Food Sci. Biotechnol.*, **14**, 704 (2005).
14. C. Park, K.-S. Kim, C.-M. Jung, H.-J. Shin, C.-J. Kim, M. Ashiuchi, K. Soda, and M.-H. Sung, *Deep-Sea Health Science*, **3**, 71 (2003).
15. C. Park, Y.-H. Choi, H.-J. Shin, H. Poo, J.-J. Song, C.-J. Kim, and M.-H. Sung, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **15**, 855 (2005).
16. Patent KR0498812 (2005).
17. K. Yokoigawa, M. Sato, and K. Soda, *J. Biosci. Bioeng.*, **102**, 215 (2006).
18. I.-L. Shih, Y.-T. Van, and Y.-Y. Sau, *Biotechnol. Lett.*, **25**, 1709 (2003).
19. M. Mitsui, A. Mizuno, H. Tanimoto, and M. Motoki, *J. Agric. Food. Chem.*, **46**, 891 (1998).
20. B.-Z. Natalie and D. M. Glodman, *Cosmetics & Toiletries*, **122**, 65 (2007).
21. Patent KR0582120 (2005). PCT003632 (2005). JP002645 (2006).
22. M. Iwamoto, C. Park, Y. Osanai, H. Uyama, C.-J. Kim, H. Poo, and M.-H. Sung, *Microbial Bioconversion and Bioproduction; Development of White Biotechnology beyond Chemical Synthesis*, CMC Press, Japan, pp 226-234 (2008).
23. T. Furumoto, H. Seino, K. Hamade, H. Uyama, M. Iwamoto, and M.-H. Sung, *Abstract book of the 34th annual meeting of Japanese Cosmetic Science Society* (2009).
24. Y. Hirasawa, K. Ori, T. Yamada, S. Ohtsu, Y. Matsui, Y. Miwa, S. Iwasaki, M. Shimizu, K. Kyuki, and S. Higo, *Folia Pharmacol. Jpn. (Nippon Yakurigaku Zasshi)*, **124**, 271 (2004).
25. Nippon Poly-Glu Co., Ltd., Patents JP174326 (2004). JP205281 (2005).
26. M. Taniguchi, K. Kato, A. Shimauchi, X. Ping, H. Nakamura, K.-I. Fuchita, and T. Tanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, **99**, 245 (2005).
27. K.-B. Kwon, D.-H. Kim, S.-H. Kang, M.-H. Sung, and C. Park, *J. KSWW*, **19**, 357 (2005).
28. T. W. Kim, T. Y. Lee, H. C. Bae, J. H. Hahm, Y. H. Kim, C. Park, T. H. Kang, C. J. Kim, and M. H. Sung, *J. Immunol.*, **179**, 775 (2007).
29. T.-Y. Lee, Y.-H. Kim, S.-W. Yoon, J.-C. Choi, J.-M. Yang, C.-J. Kim, J. T. Schiller, M.-H. Sung, and H. Poo, *Cancer Immunol. Immunother.*, **58**, 1781 (2009).
30. Y. H. Lin, C. K. Chung, C. T. Chen, H. F. Liang, S. C. Chen, and H. W. Sung, *Biomacromolecules*, **6**, 1104 (2005).
31. USA Patent 0073210 (2006).
32. I. Hajdu, M. Bonnar, G. Filipesei, J. F. Hartmann, L. Daroczi, M. Zrinyi, and J. Borbely, *Colloid Polym. Sci.*, **286**, 343 (2008).
33. F.-L. Mi, Y.-Y. Wu, Y.-H. Lin, K. Sonaje, Y.-C. Ho, C.-T. Chen, J.-H. Juang, and H.-W. Sung, *Biocjugate Chem.*, **19**, 1248 (2008).