

페니실린 이야기

생물학자들만으로 미생물의 발견으로 인간 생활에 도움을 줄 수 있을 것인가?

그렇지는 않다.우리는 단적인 예로 페니실린의 발견과 실용화 과정을 통해서 생물학자와 생물공학자의 상호 협력이 필요하다는 것을 알 수 있다.

플래밍은 박테리아를 배양하는 중 우연히 항생제를 발견하게 된다. 그는 이 물질을 가리켜 페니실린이라 명명하였다. 이러한 발견은 실제적으로는 2차세계 대전으로 빛을 보게 되었다. 그러한 이유는 다음과 같다.

설파 계통의 약들은 다소 제한된 범위의 활성을 가졌기 때문에 더넓은 응용 분야의 항생제가 절대적으로 필요하였다.

이러한 이유에서 페니실린의 중요성이 밝혀지기 시작하면서 페니실린에 폭 넓은 연구가 행해지기 시작했다. 이후 옥스포드의 한 과학자에 의해서 페니실린이 소량 생산되었지만 페니실린 대량 생산에 실패하는 바람에 거의 치료가 됐던 한 군인이 죽게 된다.

따라서 페니실린 생산에서 공학의 중요성이 인식되어지기 시작한다.

그러나 전쟁에 의한 피해로 영국은 모든 기반시설 파괴로 이러한 연구를 진행할 수 없었다. 그리하여 영국에서는 페니실린 연구를 미국에 의뢰하고 미국에서 페니실린에 대한 폭 넓은 연구가 시작되었다.

폭넓은 연구

- 페니실린 발효문제
- 제품이 매우 낮은 농도로 만들어진다는 것
- 단위 부피 당 낮은 생산성으로 거대한 반응기가 필요

- 낮은 농도는 제품의 회수와 정제를 매우 어렵게 만든다
- 페니실린은 취약하면서도 불안정한 제품이다.

페니실린 생산균주의개량

옥수수 추출액-유당을 기초로 한 배지의 개발은 10배가 넘는 생산성의 증대를 가져왔다.

이후 세계 여러 나라의 연구소의 연구결과로 새 균주인 *Penicillium chrysogenum*이 분리 되면서 페니실린의 생산은 가속도를 가하게 된다.

현재 *Penicillium chrysogenum*이 페니실린의 발효에 대부분 사용되어지고 있다.

제조공정에 대한 문제

왕겨 표면에 사상곰팡이를 키우는 표면배양이 제시 되었지만 온도조절, 살균, 설비확대의 어려움으로 생산공정에서 제외된다.

표면 배양방법은 생산수율이 비교적 높지만 배양기간이 길고 노동 집약적이다. 초기의 공장들은 이 방법의 효과와 신속히 수행될 수 있다는 장점으로 많이 사용하였다. 하지만 대량 생산을 위한 배지병을 한 줄로 늘어놓자면 뉴욕에서 샌프란시스코에 까지 이를 정도로 많은 병이 필요하였다.

화학 공학도가 침지탱크공정을 주장

이 공정이 실용화가 되기 위해서는 많은 보완이 필요 하였다. 다량의 기름과 먼지가 없는 살균된 공기가 필요하고 커다란 교반기를 사용하기 때문에 잡균의 침입을 방지 하기 위해서는 특별한 기계적 밀폐가 필요하였다. 잡균은 빠른 속도로 배지의 영양소가 페니실린으로 전환되기 전에 영양소를 소화해버릴 수도 있고 독소를 발생할 수 있었다.

그리고 특별한 페니실린 분리기술개발이 요구되었다.
이 문제점은 액체-액체 추출로 해결하였다.
앞서의 발효와 분리의문제점들은 보완해가면서
공학자들은 1000갤런의 생산탱크를 세웠다.

공학자들과 생물학자들간의 협력

전쟁 종료전까지 10 만명의 환자를 치료하게 된다.
이러한 업적에서 고도의 다양한 학문간 연구가 필요함을
볼 수 있다.
페니실린 공정 이전에는 화학공학도가 생명과학 분야에서
전문적인 기술개발을 추구한적은 없었다.
항생제의 개발과 대량생산의 추구로 인해 생물화학공학도
라는 명칭이 생겨나고 모든 학문분야의 협동성을 강조하게
되었다.

페니실린의 대량생산에 큰 영향을 주는 다음 두 가지 사항에 대해서 자세히 살펴보기로 하자.

균주 : *Penicillium notatum*과 *P. chrysogenum*에 속하는 수많은 균주들이 대상이 되어 항생물질 생산율이 조사되었다. 이 중 *P. chrysogenum* NRRL 1951 균주가 탁월한 생산성을 보였다. 이 균주로 평판 배양과 선별 작업을 거듭하여 모균보다 좋은 NRRL 1951B25를 얻는다.

이것에 X-선을 조사하여, 페니실린 생산율이 2배나 높은 X-1612를 만들어 낸다.

다시 위스콘신 대학의 Backus와 Stauffer에 의해 UV-조사로 더 좋은 균주를 얻어 Wisconsin Q1760이 개발되었다.

이 균주에서 단리된 포자가 산업적 생산균주의 모균이 되게 된다. 그 후 연구는 계속되어 색상이 없고 무색인 벤질페니실린을 생산할 수 있게 된다.

배지 : 초기의 *P. Notatum*을 이용한 표면배양에는 성분이 뚜렷한 합성 배지를 사용하였다.

여기에 카세인소화물, 효모추출물 등을 첨가해 보았더니, 항생물질의 생산성이 높아졌다.

배지의 설탕이나 포도당을, 유당으로 대체하는 것이 더 좋은 결과를 가져오는데, 이것은 유당이 곰팡이에 의해 천천히 대사됨으로써 발효기간 동안 탄수화물의 안정적인 공급이 되기 때문이라고 해석된다.

면실, 낙화생박, 대두박 같은 복잡한 질소원을 사용함으로써 항생물질의 생산성은 더욱 증진되었다.

옥수수 침지액을 배지로 사용하고, 균주를 *P. chrysogenum*으로 바꿈으로써 페니실린 생산에 또 하나의 커다란 진전을 가져와서 생산율을 20 μ g/ml에서 약 100 μ g/ml로 올려놓았다.

옥수수 침지액이 필요한 질소원을 공급할 뿐 아니라, 그 속에 페닐알라닌이 들어 있고, 그 페닐알라닌이 벤질페니실린 형성의 선구물질이라는 것도 알게 되었다.

때를 같이하여 화학합성 배지의 개발도 이루어졌다.

첫 성공적인 배지를 Jarvis와 Johnson이 만들어 냈으며, 이 속에는 락토오스, 무기염류, 락트산 암모늄과 아세트산염 그리고 벤질페니실린의 선구물질로 페닐아세트산이 포함되어 있다.

처음에 소포제로 사용했던 야채유가, 생산율을 높이는데 도움이 된다는 사실을 알게 되었으며, 이러한 기름은 균주체 형성과 항생물질 생산성을 동시에 증진 시킨다.

발효: *P. chrysogenum* 균주의 포자를 500mL 삼각 플라스크 속에 담긴 100 mL 배지에 접종시켜, 25°C에서 진탕배양한다. 배양 4일 후에 플라스크 내용물을 2 L의 배지에 옮긴다. 이 두번째 플라스크를 2일 동안 진탕배양한 다음, 800 L 스테인레스 탱크 속의 500L 배지에 내용물 전체를 옮겨 담는다. 이 탱크에는 통기, 교반, 온도조절, 소포제 첨가 등의 장치가 구비되어 있다. 이 속에서 3일 동안의 배양이 끝난 500 L 종균으로, 250,000 L 발효조 속의 180.000L의 배지에 접종하여, 발효를 시작한다. 이 큰 발효조는 멸균된 포도당시럽의 연속공급, NaOH와, H₂ SO₄의 자동첨가에 의한 pH의 조절, 소포제인 동물성 또는 식물성기름의 자동첨가, 무균 페닐아세트산의 연속공급 등이 되도록 설계되어 있다.

발효가 끝나면 발효조의 내용물을 여과하고, 여액을 Podbelniak 추출기를 통과시켜, 페니실린을 아밀 아세테이트 부틸 아세테이트 또는 메틸이소부틸 케톤으로 추출한다. 추출물 속에 포함된 페니실린은 인산완충제로 재추출하여 수용매로 돌려보낸 뒤에 부탄올-물 혼합물로부터 페니실린 G칼륨을 석출시킨다.

통기와 교반은 페니실린 생산에 기본적인 공정이다 대규모 발효를 위해 연구된 산소전달에 관한 원리를, 페니실린 생산 공정에 이용하려는 연구가 이루어졌다.

발효온도도 페니실린 생산공정에 매우 중요하며, 보통 $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 발효하고 있다.

페니실린 분자는 6-aminopenicillanic acid에 R-기가 붙어서 되어 있고, 이 R기가 무엇이냐에 따라 페니실린의 종류가 결정된다. 페니실린 아실라제는 페니실린을 6-APA와 R-기로 분해시키는 역할을 한다. 이 원리를 이용하여 페니실린의 반합성 공정이 개발되었다. 예컨대, 발효를 통해 먼저 페니실린 G를 생산하고, 여기에 페니실린 아실라제를 작용시켜 6-APA를 만들어 분리한 다음, 역시 아실라제의 존재하에 R-기가 될 수산화 페닐아세트산이나 페녹시아세트산등을 첨가하면, 첨가한 선구물질에 따라 수산화 벤질 페니실린이나 페녹시 메틸 페니실린등이 생산된다. 이렇게 하여 많은 종류의 새로운 페니실린이 만들어졌다.

1953년에 Kato가 6-APA의 존재를 예측하고, 뒤에 Batchelor 등이 6-APA가 페니실린의 핵심물질이라는 사실을 밝힌 것이 반합성 생산법 개발의 직접적인 동기가 된것이다.

생물 학자와 공학자

■ 생물 학자

- 수학적 이론이나 정량적인 지식을 중요시 하지 않음
- 정성적 결과를 얻으며, 실험적 모델을 세워 검증

■ 공학자

- 물리학, 수학 지식 풍부, 흔히 이론을 수식 형태로 전개
- 이론의 타당성 조사를 위해 실험과 예상되는 반응 비교
 - 정량적 모델 세운 후, 실험 설계, 결과 해석

■ 상호 보완적 관계 이어야 할 생물학자와 공학자

생물 공학 & 생물 화학 공학

➔ 생물 화학 공학(biochemical engineering)

- 생물 촉매를 사용하는 시스템에 화학 공학 원리를 적용하여 원하는 화학 변화를 일으키는 것

➔ 생물 공정 공학(bioprocess engineering)

- 화학 공학, 기계, 전기 산업공학의 원리를 세포나 효소를 기초로 한 공정에 응용하는 것
- 좁은 의미 : 화학공학 원리 이용
- 넓은 의미 : 인공공정의 활용에 국한하지 않고 자연의 과정 해석에서도 응용