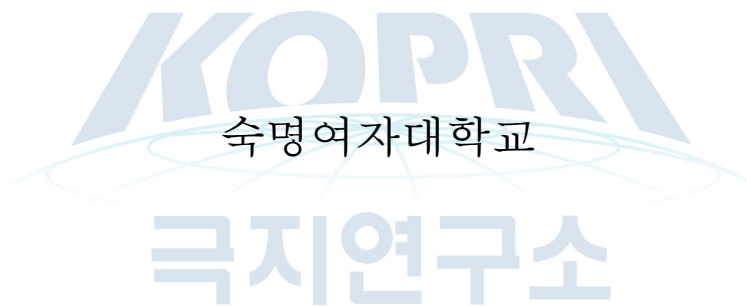


해양극지기초원천기술개발사업
(Brain Research Program)

바이오매스의 에너지화를 위한 xylanase 및 acetyl xylan
esterase의 탐색
(Identification of xylanase and acetyl xylan esterase for
effective bioenergy)

2021. 3.



제 출 문

과학기술정보통신부 장관 귀하

이 보고서를 “바이오매스의 에너지화를 위한 xylanase 및 acetyl xylan esterase의 탐색“과제의 (최종: 2017.01~2021.03) 보고서로 제출합니다.

2021년 03월 31일

위탁연구기관명 : 숙명여자대학교
위탁연구책임자 : 김 두 헌
연구 원 : 권세나, 김부영, 류범한,
“ : 유완기, 이의주, 이소정,
“ : LE THI HUONG LUU LY
(이상 숙명여자대학교)



최종보고서					보안등급							
					일반[√], 보안[]							
중앙행정기관명		과학기술정보통신부		사업명	사업명		거대과학연구개발사업					
전문기관명(해당 시 작성)		한국연구재단			내역사업명 (해당 시 작성)		해양극지기초원천기술개발사업					
공고번호				총괄연구개발 식별번호								
				연구개발과제번호		2017M1A5A1013569						
기술분류	국가과학기술 표준분류		ND1104	40 %	LA0601	40%						
	부처기술분류 (해당 시 작성)											
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문	북극권 동토 관측 거점유래 고분자 유기 탄소 화합물 분해관련 유용 저온효소 활용연구									
		영문										
연구개발과제명		국문	바이오매스의 에너지화를 위한 xylanase 및 acetyl xylan esterase의 탐색									
		영문	Identification of xylanase and acetyl xylan esterase for effective bioenergy									
주관연구개발기관		기관명		숙명여자대학교		사업자등록번호		106-82-12227				
		주소		(14310)서울시 용산구청파로 90길 90		법인등록번호						
연구책임자		성명		김두현		직위		교수				
		연락처		직장전화		02-2077-7806		휴대전화		010-2739-6479		
				전자우편		doohunkim@sm.ac.kr		국가연구자번호		1013-5259		
연구개발기간		전체		2017. 01. 01 - 2021. 03. 31 (4년 3개월)								
		단계 (해당 시 작성)		1단계		2017. 01. 01 - 2017. 12. 31 (1년 0개월)						
				n단계		2018. 01. 01 - 2021. 03. 31 (3년 3개월)						
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금 지방자치단체 기타()			합계		연구개발 비외 지원금		
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계			
총계		120,000						120,000		120,000		
1단계	1년차											
	2년차		30,000						30,000		30,000	
n단계	1년차		30,000						30,000		30,000	
	2년차		30,000						30,000		30,000	
	3년차		30,000						30,000		30,000	
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자		직위	휴대전화	전자우편	비고 역할 기관유형				
공동연구개발기관												
위탁연구개발기관												
연구개발기관 외 기관												
연구개발담당자 실무담당자		성명		전상은		직위		연구원				
		연락처		직장전화		02-2077-7806		휴대전화		010-9497-0331		
				전자우편		sangeun94@sookmyung.ac.kr		국가연구자번호		1241-5380		

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2021 년 5 월 8 일

연구책임자: 김 두현 (인)
주관연구개발기관의 장: 이 명석 (직인)

과학기술정보통신부 장관 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		해양극지기초원천기술개발사업		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호		2017M1A5A1013569	
기술 분류	국가과학기술 표준분류	ND1104	40 %	LA0601	40%		%
	부처기술분류 (해당 시 작성)		%		%		%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		북극권 동토 관측 거점유래 고분자 유기 탄소 화합물 분해관련 유용 저온효소 활용연구					
연구개발과제명 (위탁과제)		바이오매스의 에너지화를 위한 xylanase 및 acetyl xylan esterase의 탐색					
전체 연구개발기간		2017. 01. 01 - 2021. 03. 31 (4년 3개월)					
총 연구개발비		총 120,000 천원 (정부지원연구개발비: 120,000 천원, 기관부담연구개발비 : 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[<input checked="" type="checkbox"/>] 응용[<input type="checkbox"/>] 개발[<input type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[<input type="checkbox"/>]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표		목질계 바이오매스의 에너지화를 위한 xylanase 및 촉진제로서 acetyl xylan esterase의 탐색, 개발, 및 응용				
	전체 내용		- 북극등 극지미생물 유래의 xylanase의 탐색 및 활용 - xylanase의 활용을 위한 전처리과정에 활용되는 acetyl xylan esterase의 개발 및 응용				
	1단계 (해당 시 작성)	목표	극지미생물 유전체로부터 xylanase의 탐색 및 특성규명				
		내용	산업용효소로서의 특성을 보유한 xylanase의 탐색 및 응용가능성 탐색				
2단계 (해당 시 작성)	목표	Xylanase 및 촉진제로서 acetyl xylan esterase의 응용					
	내용	1. Acetyl xylan esterase로부터 산업적 응용가능성 탐색 및 효소적용응용화 1건 이상 2. Acetyl xylan esterase 및 관련 효소의 응용가능성 탐색연구 2건 이상					
연구개발성과		미생물 유전체로부터 다양한 Acetyl xylan esterase 효소들의 특성연구 <ul style="list-style-type: none"> 저온성 미생물로부터 다양한 acetyl xylan esterase 효소들의 탐색을 수행하였고 이를 바탕으로 응용가능성을 탐색하였음 효소의 특성을 이해하고 이를 바탕으로 효소반응을 분석하였음 최신 생명공학연구방법론을 활용한 acetyl xylan esterase의 분석 <ul style="list-style-type: none"> 효소공학방법론의 도입을 통하여 효소의 활성 및 기작에 대한 연구를 진행하였음 식물-미생물 의사교환과정에서 효소의 중요성이해 및 응용가능성 파악 					

<p>연구개발성과 활용계획 및 기대 효과</p>	<p>[기술적 측면]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 극지생명자원을 활용하여 BT, IT, NT 등 융합학문을 촉진하여 극지생명공학 분야의 국가 경쟁력 제고 - 극지미생물 유래의 산업용 효소의 개발을 통하여 현재의 에너지위기에 대한 효과적인 대응책 마련에 대한 연구 및 기본기술 축적 <p>[산업적 측면]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 산업적으로 유용한 저온 활성 단백질 또는 유용물질의 발굴과 같은 실용화 연구로 관련 산업의 동반성장 효과 - 극지 생명공학 분야 국가 경쟁력 향상 - 새로운 신생명자원 개발 및 창조산업의 기반자원 제공 											
<p>연구개발성과의 비공개여부 및 사유</p>	<p>해당사항없음</p>											
<p>연구개발성과의 등록·기탁 건수</p>	<p>논문</p>	<p>특허</p>	<p>보고서 원문</p>	<p>연구 시설·장비</p>	<p>기술 요약 정보</p>	<p>소프트웨어</p>	<p>표준</p>	<p>생명자원</p>		<p>화합물</p>	<p>신품종</p>	
	<p>12</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>
<p>연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황</p>	<p>구입 기관</p>	<p>연구시설·장비명</p>	<p>규격 (모델명)</p>	<p>수량</p>	<p>구입 연월일</p>	<p>구입가격 (천원)</p>	<p>구입처 (전화)</p>	<p>비고 (설치장소)</p>	<p>ZEUS 등록번호</p>			
	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>	<p>0</p>		<p>0</p>	
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>바이오매스</p>				<p>자일란분해효소</p>			<p>아세틸자일란분해효소</p>				
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Biomass</p>				<p>Xylanase</p>			<p>Acetyl Xylan Esterase</p>				

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

극지연구소

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	5
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용	11
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도	14
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)	28
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도	29
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획	29

별첨자료 (참고 문헌 등)



※ 각 항목에서 요구하는 정보를 포함하여 연구개발과제의 특성에 따라 항목을 추가하거나 항목의 순서와 구성을 변경하는 등 서식을 수정하여 사용하거나 별도의 첨부자료 활용이 가능합니다.
 다만, '1.3) 세부 정량적 연구개발성과' 항목은 2021.1.4.부터 2021.12.31.까지 수정 사용 가능합니다.

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발의 개요

- 목질계 바이오매스는 지구상에서 가장 많이 생산되는 재생 가능한 천연자원으로서 셀룰로스(cellulose), 헤미셀룰로스(hemicellulose) 및 리그닌(lignin)으로 구성되어 있으며 셀룰로스와 헤미셀룰로스는 당화 및 biorefinery 공정을 통해 바이오에탄올 등의 유용물질 생산의 원료로 사용이 가능함.
- 식물세포의 대부분은 셀룰루스와 헤미셀룰루스의 형태를 취하며, 그 나머지는 phenylpropane 빌딩블록인 리그닌이 차지하며, 이들 구성성분이 차지하는 중량비율은 셀룰루스가 40~60%, 헤미셀룰루스가 20~40%, 리그닌은 10~25%를 구성함.
- 셀룰로우스 기반의 에탄올은 다른 에탄올에 비해 그 원재료가 풍부하고 다양하다는 점에서 장점이 있으며, 정제회탈유에 비해 85% 이상의 온실가스 배출감소를 가져올 수 있는데, 다른 에탄올의 경우 그린가스 배출 감소효과가 거의 없음.
- 다당류의 연결체인과 리그닌으로 구성되어 있는 바이오매스는 높은 에너지 저장에도 불구하고 가수분해가 매우 어렵다는 특성을 가짐. 그동안 수많은 연구개발을 통해 가수분해와 당의 에탄올 발효에 최적인 효소 및 미생물을 발굴, 개량하기 위한 작업이 이루어져 왔으나, 투입원자재의 특별한 요구조건, 상대적으로 낮은 에탄올의 농축도 등으로 인해 생산비용과 에너지 효율간의 미묘한 균형을 맞추는 것이 매우 어려운 게 현실임.
- Xylanase(endo-1,4- β -xylanase)는 다양한 xylan의 β -D-1,4-xylopyranosyl 결합을 무작위로 가수분해하는 효소로서 β -xylosidase와 함께 xylan의 가수분해에 중요한 역할을 하는 산업용 효소임. 현재까지 곰팡이와 세균 및 방선균으로부터 다양한 종류의 xylanases가 보고되었으며 종류에 따라 기질특이성, 분해산물의 중합크기와 반응특성이 다르다. 현재 까지 알려진 거의 대부분의 xylanase는 glycosyl hydrolase (GH) 10과 glycosyl hydrolase (GH) 11에 속함.
- Acetyl xylan esterase (EC 3.1.1.72) 는 xylanase의 활성을 위한 전처리 과정에서 xylan에 작용하여 acetic group을 제거함으로써 xylanase의 활성을 획기적으로 높여줄 수 있는 촉진제로 작용할 수 있음이 최근에 알려져 있음. 이는 acetylated xylan이 효소에 민감하지 반응하지 않는데 전처리과정에서 acetyl xylan esterase를 처리하게 되면 약 30%의 효율이 증가함이 보고되어 있음.



1-2. 연구개발 대상의 국내·외 연구현황

현재, 전세계적으로 극한미생물로부터 높은 활성을 가진 xylanase(통칭 “Xtreme Xylanase”)에 관한 연구가 시작되고 있다. 이 효소는 미생물이 높은 온도의 온천이나 강산성 환경등에 잘 적응하여 살아가는데 필수적인 역할을 한다. 미국 에너지부(U.S. Department of Energy)에 따르면 2025년까지 석유수입분의 75%를 바이오매스를 이용하여

대체하려는 계획을 진행하고 있다. 이 Xtreme Xylanase들을 이용하여 에너지를 얻거나 경제적가치가 많은 화합물들을 생산하는 작업이 시도되고 있는 상황이다. 이러한 효소들은 바이오매스에서 hemicellulose나 cellulose들을 분해하여 정제된 탄수화물류로 변화시키는 작용을하고, 얻어진 산물들을 석유의 구성부분을 대체하거나 고부가가치 생산품을 만드는 데 활용될 수 있다.

현재 미국의 경우 매년 13억톤에 해당하는 바이오매스가 생산되는 데 이를 에너지원이나 고부가가치 화합물로 바꾸는 비용을 낮출 경우, 산업구조의 고도화를 촉진할뿐더러 석유의 존도를 낮추고 관련 산업의 생산력을 증가시킬 수 있을 것으로 전망된다. 미국의 경우 DOE의 주관하여 바이오매스 프로그램(Biomass Program)을 진행하고 있으며 2030년까지 교통 및 운반수단에 들어가는 석유의 비중을 30% 가까이 줄이는 작업을 진행하고 있다. 현재, 미국에너지부의 추산에 따르면 자동차의 가솔린 소비가 2천억리터 이상을 상회하므로, 효과적인 “Xtreme Xylanase “가 탐색/발굴되면 경제적인 효과가 600억불에 달하는 것으로 판단된다. 또한, 이러한 작업은 CO2의 절감을 가져와서 매년 5천억톤에 이르는 CO2가 절감 되게 되고 이에따라 지구온난화 및 온실효과도 크게 감소될 것으로 판단된다.

현재 산업적인 공정에서는 바이오매스의 처리의 효율성을 위하여 다양한 방식의 전처리공정을 도입하고 있는데 가장 중요한 핵심중의 하나는 탈아세틸화(deacetylation process)라고 할 수 있다. 이러한 전처리공정의 효율성에 따라 고효율 고농도의 당화합물을 얻게 된다. 현재 미국에서 가동중인 바이오매스공정에서 다양한 방식의 탈아세틸화를 처리하는 데 일반적으로 80%의 효율로 공정이 유지될 경우 대부분의 xylan이나 glucan들이 monomer나 dimer형태로 분해되어 효율성이 30%이상 크게 증대되는 것으로 보고되어 있다. 그러나 이 탈아세틸화는 환경적인 문제와 에너지소모가 많으므로 이를 효소공정으로 대체하려는 연구가 최근의 연구경향이다.

효소공정으로 전환시 가장 활용도가 큰 효소는 탈아세틸화효소들인데 관련하여 AXE (Acetyl Xylan Esterase) 의 활용은 이의 핵심적인 요소라고 판단된다. 기술한 것처럼 전처리과정에서 탈아세틸화가 효과적으로 이루어지면 공정전체의 효율성이 증가될뿐더러 관련한 비용도 크게 감소하는 것으로 알려져있다. 추가적으로 공정에 효과적으로 활용될 수 있으며 경제성이 충분히 확보된 AXE의 탐색 및 개발이 필수적이라고 할 수 있다. 본 연구에서 추진하는 극지미생물유래의 AXE의 개발은 산업적인 응용이 가능하며 효소의 주요한 산업적인 응용의 하나라고 판단된다.

1-3. 연구개발의 중요성

1. 식물기반 바이오매스의 효과적인 가수분해를 위한 복극미생물의 활용

현재 식물기반 바이오매스의 산업적 이용 및 에너지 자원화에 관한 연구가 진행되고 있으나 효과적인 xylanase 및 accessory enzyme들에 대한 연구가 지속적으로 진행될 필요가 있다. 이러한 효소들을 이용하여 가수분해과정을 효율적으로 진행하는 것이 주된 연구방향이다. 이러한 과정에서 극지미생물 유래의 xylanase 및 acetylxylan esterase는 에너지의 최소소모와 더불어 효소의 활성이 낮은 온도에서 잘 발휘될 수 있으므로 식물기반 바이오매스의 전처리 및 후처리 과정에 중요한 역할을 할 것으로 판단된다.

2. 극지미생물 유래의 효소의 특성분석을 통한 기반기술 확보

극지미생물유래의 효소는 낮은 온도에서의 높은 점성을 보이는 환경에서 잘 이용될 수 있으며 반응속도의 감소에도 적절하게 사용될 수 있는 특성을 가지고 있다. 극지미생물유래의 효소들은 활성화에너지가 낮아서 높은 효소활성도 high catalytic efficiency를 보이게 되는 특징이 있으며, 이는 단백질구조의 유연성으로부터 유래하는 것으로 생각된다. 즉, 이러한 효소들은 낮은 온도의 열에너지로 말미암아서 필요한 에너지의 절대적인 크기가 작은 경향이 있다. 결과적으로 단백질의 구조형성과정이 다른 미생물의 효소들과 달리 빠른 시간내에 효과적으로 이루어지면서 구조적인 유연성이 확보되게 된다. 본 연구에서는 이러한 구조적인 유

연성을 가진 xylanase 및 acetylxylan esterase의 연구를 통하여 극지미생물 유래의 효소의 특성에 대한 기반 기술을 확보하고자 한다.

3. xylan의 분해과정을 조절할 수 있는 새로운 Glycoside Hydrolase 탐색 및 응용

현재까지 알려진 많은 xylanase는 glycoside hydrolase 10 family와 glycoside hydrolase 11 family에 속한다. 최근의 연구경향은 이러한 두 개에 해당하는 단백질 군외에 추가적인 xylanase 활성을 갖는 효소의 탐색이 중요한 과제이다. 특히, 곰팡이과 방선균에서 이러한 연구가 진행되고 있으며, 본 연구에서 추진하는 극지미생물에서의 xylanase의 개발에 관여하는 창의성 및 신규성이 확보된다고 할 수 있다. 이러한 극지미생물 유래의 xylanase에 관한 연구는 기초과학적인 중요성과 더불어 산업적인 응용가능성이 크므로 다년간의 연구계획에 의한 연구의 진행이 중요하다고 생각된다. 또한, 연구의 진행이 원활하게 진행될 경우 극지미생물 유래 효소에 관한 전반적인 지식을 크게 증가시킬 것으로 판단된다.

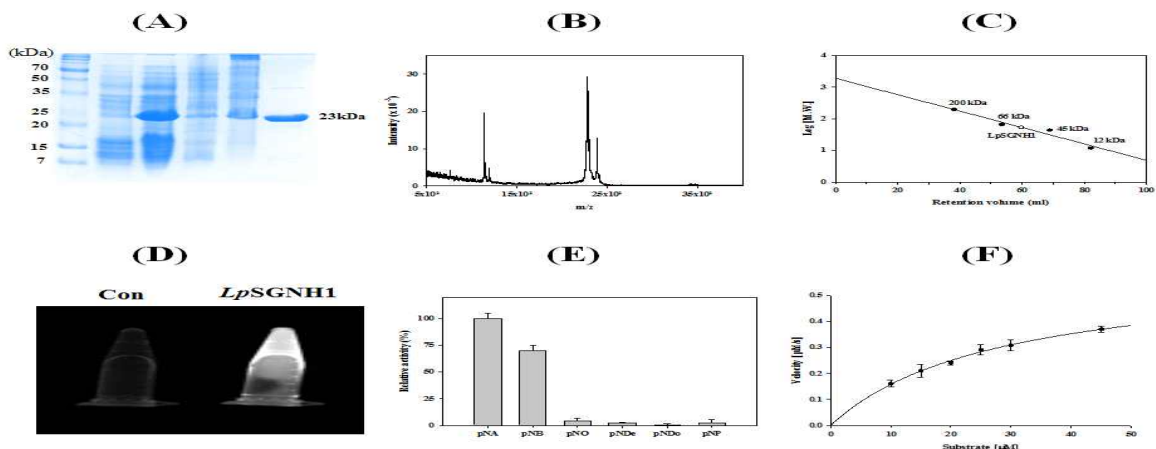
4. 바이오매스 전처리과정을 위한 acetylxylan esterase에 관한 연구

바이오매스의 처리과정에서 효율증가를 위하여는 여러 가지 종류의 accessory enzymes 들이 필요함이 알려져 있다. 특히, acetyl group이 저해요소가 되므로 전처리과정에서 deacetylation process가 필요하다. 본 연구에서는 이를 위하여 acetylxylan esterase를 탐색 발굴하여 이러한 deacetylation process에 활용하고자 한다. 극지미생물유래의 효소이므로 에너지의 소모가 적고 구조적인 유연성에 기반하여 다양한 결합으로 이루어진 탄수화물복합체의 deacetylation에 효과적으로 작용할 수 있을 것으로 판단된다. 이러한 acetylxylan esterase와 xylanase에 관한 연구는 산업적인 응용가능성 및 단백질-탄수화물 상호작용에 대한 많은 정보를 제공하므로 기초과학적인 중요성도 크다고 할 수 있다.

1-4. 선행연구의 내용 및 결과

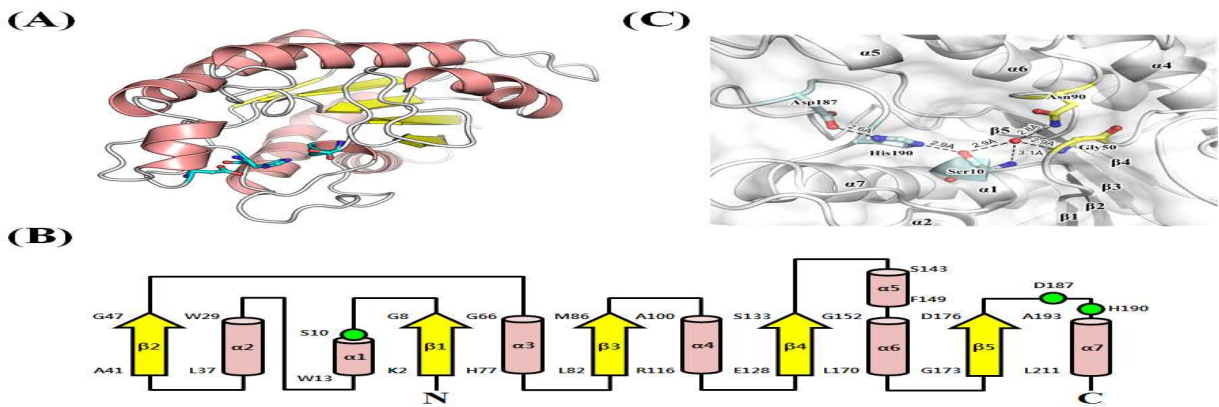
본 연구진은 현재 다양한 미생물로부터 xylanase 및 acetylxylan esterase를 탐색하고 이들의 라이브리리를 구축하고 있으며, 단백질의 활성 및 안정성연구, 구조분석, 효소의 집적화/고정화 연구개발, 동물세포의 배양에 대한 다양한 요소기술을 개발한 경험과 성과를 가지고 있으며, 주요 선행연구결과는 다음과 같다.

선행 결과 1 : *Sinorhizobium meliloti* 과 *Listeria innocua* 등의 미생물 유전체로부터 Sm23, Li22, Est24, Sm25 등의 acetylxylan esterase 및 관련 단백질들을 효과적으로 유전자 분석, 단백질 발현 및 대량생산하여 기능과 구조를 분석하고 해외학술지에 논문을 제출하였다. 또한, 현재, *Lactobacillus acidophilus*로부터 LAN31를, *Leuconostoc citreum*으로부터 LCK36, *Lactobacillus garvieau*로부터 Lg37등을 얻어서 대장균을 이용하여 발현 및 특성분석을 진행하고 있다.

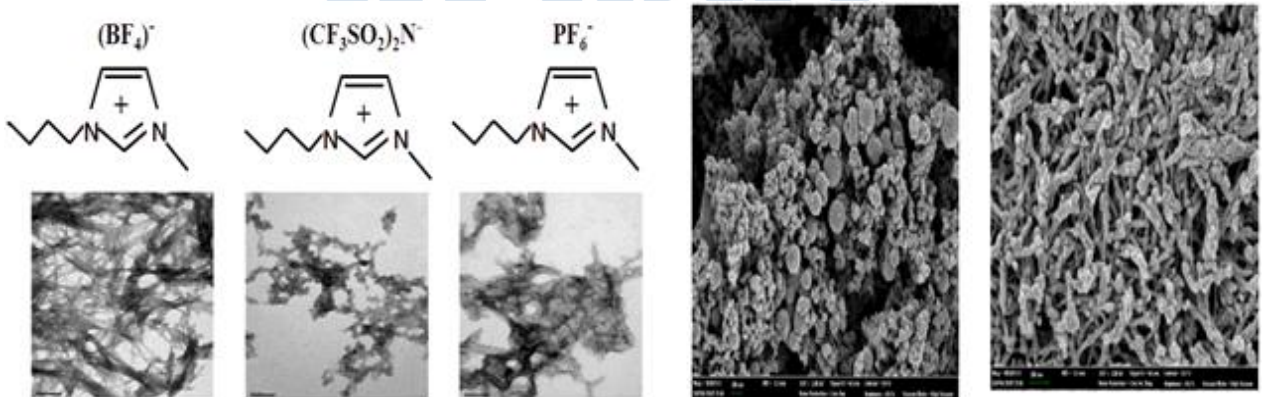


선행 결과 2 : Acetylxylan esterase인 Sm23, Est24, Sm25의 결정화 및 구조분석을 수행하였으며 단백질의 구조분석을 위하여 CD, Fluorescence, x-ray crystallography등을 이용하여 단백질의 2차 구조 및 3차구조의 변화양상을 분석하여, 효소의 안정성의 주된 원인과 조건

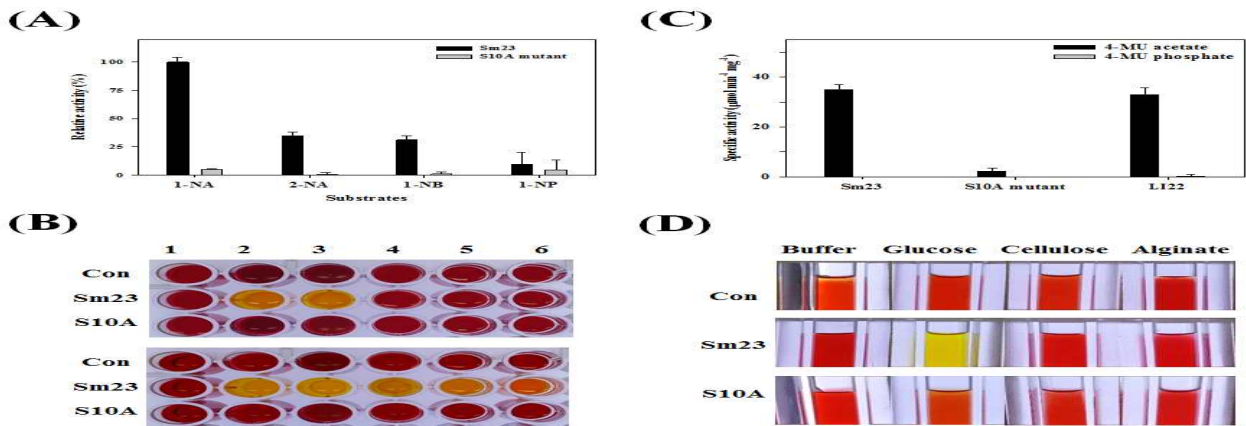
들을 찾아 내었다. 또한, *Sinorhizobium meliloti*에서 유래한 Sm23를 결정화 하고 이의 구조를 밝혔다.



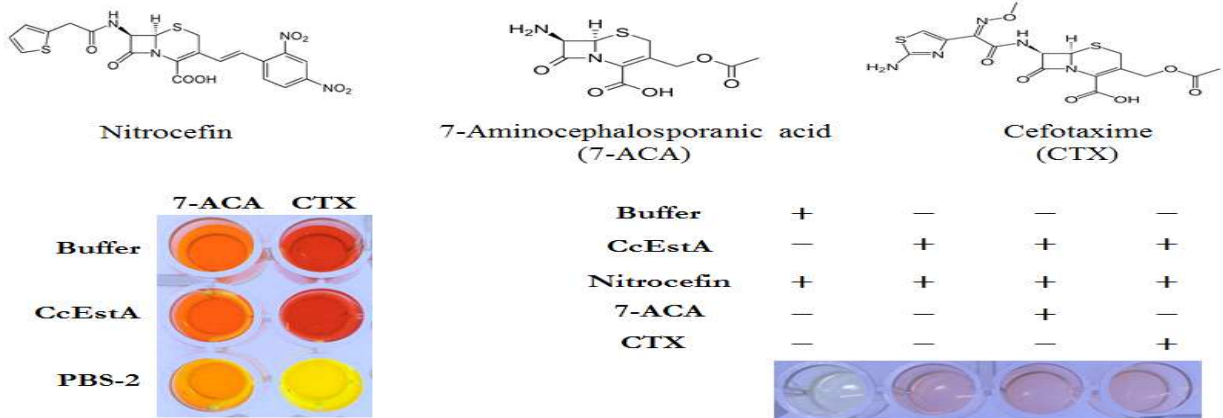
선행 결과 3 : 탐색발굴한 효소를 이용하여 효율성 및 안정성이 증가된 효소복합체를 개발하고자 현재는 Crosslinked enzyme aggregates(CLEA)방법을 통하여 단위면적당 효소의 고 집적화를 유도하고 SEM과 활성측정을 통하여 효율을 측정하였다. 또, 이들의 집적화를 촉진하기 위하여 1-butyl-3-methylimidazolium 계열의 화합물들이 균일한 형태의 효소복합체의 형성을 가져오는 것을 TEM으로 확인하였다. 이를 특성분석한 결과 열에 대한 안정성이 증가한 점과 SDS와 UREA에 대한 안정성이 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 이러한 고정화를 통해 얻고자 했던 재사용에 관한 특성도 확인할 수 있었다. 현재, CLEA에 amyloid fibril와 같은 protein aggregates을 도입하는 연구를 진행하고 있다.



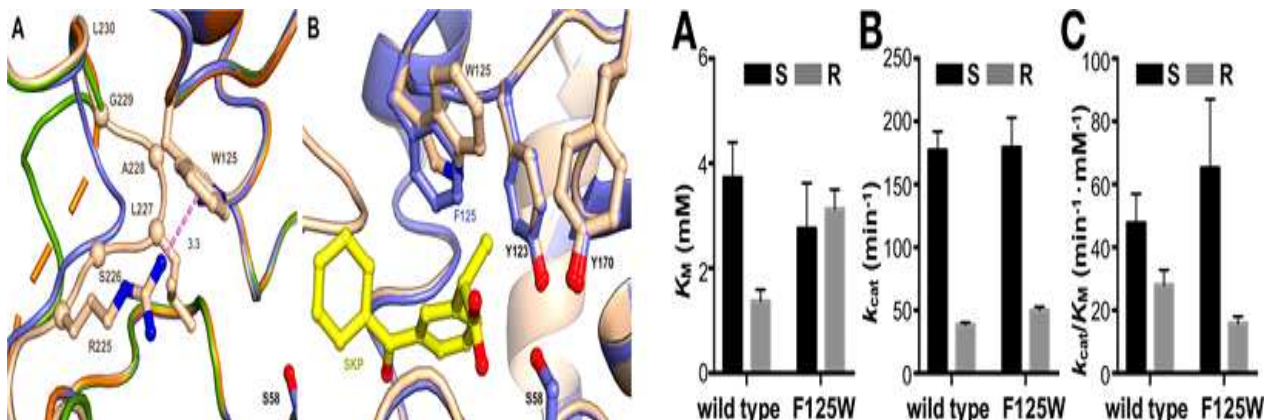
선행연구결과 4 : *Sinorhizobium meliloti* 1020에서 유래한 Acetylxylan esterase인 Est24와 Sm23를 생화학/분자생물학적인 방법을 통해서 효소의 특성과 기능을 규명하였다. 기질특이성과 더불어 온도에 따른 구조적 변화나 melting point (T_m)를 측정하기 위해 circular dichroism (CD)를 수행하였으며, time of flight (TOF) mass spectrometry나 Gel filtration을 수행하였다. 또한, multiple alignment를 통하여 catalytic triad와 oxyanion hole residues를 예측한 후 site-directed mutagenesis를 통하여 활성변화를 알아보았고, active site 부분의 큰 잔기들을 상대적으로 작은 Alanine으로 mutation시켜 *p*-nitrophenyl acetate (C2)보다 긴 chain을 분해하는 기능적 효소로 개량하고 있다.



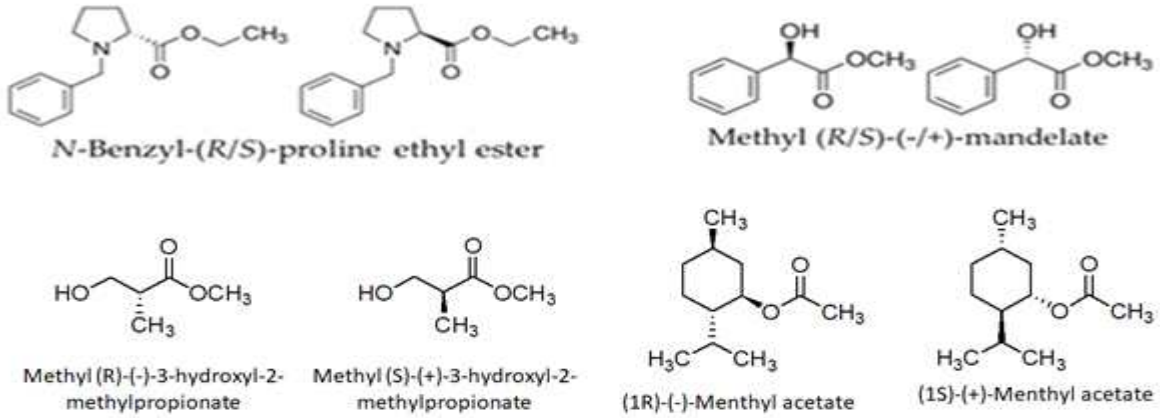
선행 결과 5 : *Caluobacter* species, *Pseudomonas* species, *Ruegeria* species 등으로부터 AmpC Class C β -lactamase에 해당하거나 유사한 유전자를 탐색 확인하고, 이에 대한 단백질의 기능 및 특성, 그리고 구조분석을 진행하고 하였습니다. 구체적으로 *Caluobacter* species에서 얻어진 AmpC 단백질의 경우에는 nitrocefine에 높은 활성을 가지고 있으며, cefotaxime 등 비롯한 다양한 3세대 및 4세대 항생제의 분해에 관여함을 확인하였습니다. 또, 구조분석을 통하여 AmpC의 구조에서 두 개의 커다란 유동성부분(UL과 LL)이 β -lactam계열의 항생제를 결합하는 데 주요역할을 하게 됨을 처음으로 규명하였다. 또한, 추가적으로 cephalosporin 계열의 항생제에 대한 분해과정에 대한 연구를 진행하고 있습니다. (Scientific reports, BBA-General Subjects, FEBS Letters 등)



선행 결과 6 : Metagenomic library로부터 Class C β -lactamase에 속하는 Est-Y29을 얻어서 기능 및 특성분석, 그리고 구조분석을 진행하였습니다. 또한, Class C β -lactamase에 대한 광학이성질 저해제의 개발을 위한 molecular modeling, site-directed mutagenesis, 효소-기질복합체의 구조분석 등의 연구를 진행하였습니다 (ACS Catalysis, Acta D Structural Biology, BBA-General Subjects)



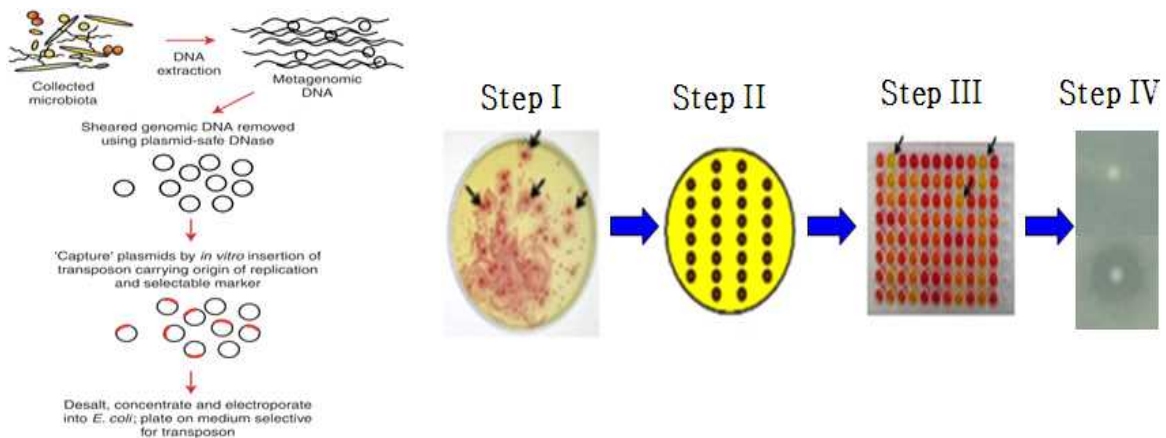
선행 결과 7 : Est-Y29 및 CcAmpC의 신규 Class C β -lactamase의 구조를 밝히고 이의 기질에 대한 정보를 바탕으로 기반하여 광학이성질 저해제를 탐색하였으며, 현재까지의 연구 결과로 미루어 methyl-(R)-3-hydroxyl-2-methylpropionate의 유도체에서 강한 저해효과를 확인하였다. 하지만 methyl-(S)-3-hydroxyl-2-methylpropionate에서 유래한 유도체의 경우에는 저해효과가 크게 관찰되지는 않으므로, (R)-형태를 기준으로 한 광학이성질 저해제의 개발에 관한 진행하고 있습니다. 또한, 1R-menthyl acetate의 경우에도 저해효과는 적지만 의미있는 수준의 실험값을 얻은 상태입니다 (ACS Catalysis, BBA-General Subjects).



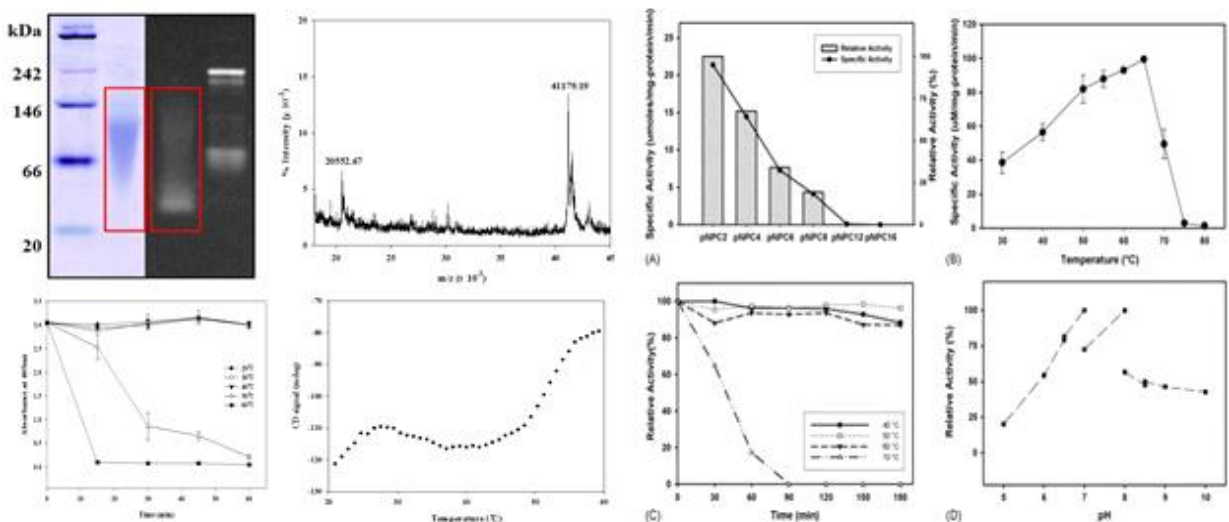
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

2-1. 연구개발 추진 전략 · 방법

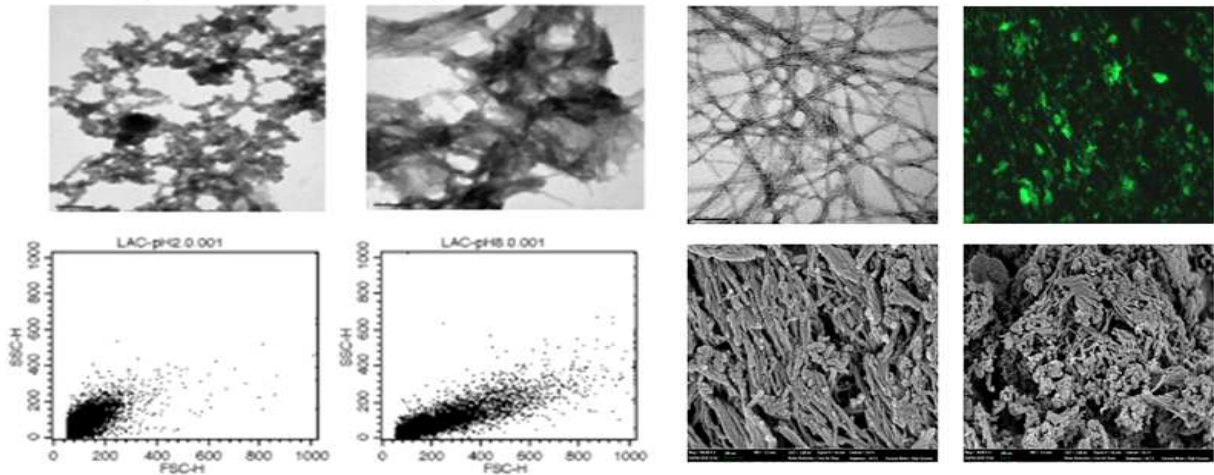
연구방법 1. Genome-wide mining 방법을 통하여 xylanase 및 acetyl xylan esterase를 선별한다. 이때 xylanase 및 acetyl xylan esterase 유전자를 탐색하는 방법은 기존의 문헌에서 유래한 활성측정과정인 기존의 알려진 polysaccharides 및 acetylated compounds를 통하여 진행됨을 이용하여, 이를 기질로 하여 pH indicator를 이용한 색 변화 반응을 이용한다. 우선, 기질로 150mM 3-deoxyhexose 및 관련 유사체를 사용하여 페놀레드(1g/l)와 함께 20mM Tris-HCl에 1% Triton X-100을 이용하여 staining solution을 만들어 사용하게 되면, pH indicator는 당화가 진행됨에 따라 붉은색에서 노란색으로 변하게 된다. 따라서, 색깔변화에 사용된 *E. coli*를 선별하여 내고 이들로부터 유전자 라이브러리를 구축하게 된다.



연구방법 2. xylanase 및 acetyl xylan esterase 부분의 효소활성을 분석하기 위하여 다양한 기질과의 반응을 Biochemical assays, Fluorescence microscope, Flow cytometer, Liquid Chromatography 등을 이용한다. 이를 통해 개별효소의 반응 kinetics 및 효소-기질 친화상수, 열역학적인 탈피 및 엔트로피 측정 등을 통해 파악한다. 이를 통하여 xylanase 및 acetyl xylan esterase와 기질의 직접적 인지 메커니즘 규명, 반응 site 분석, 열역학적 반응 포텐셜 측정, 반응 메커니즘을 분석한다.

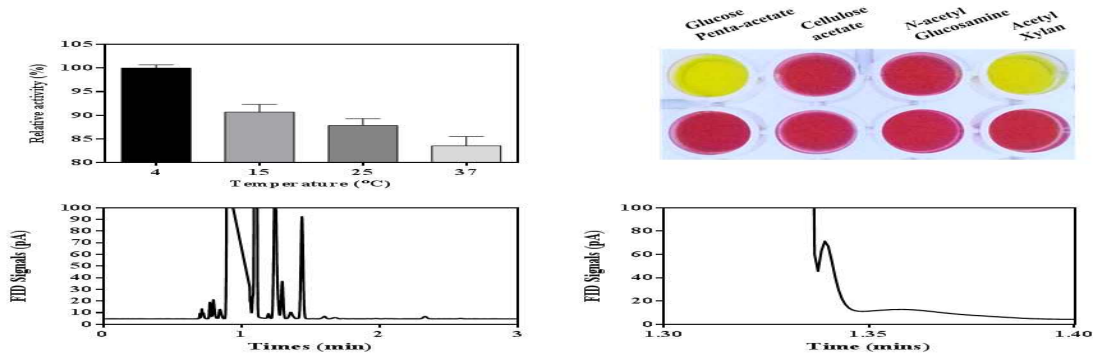


연구방법 3: 효소활성을 가진 xylanase 및 acetyl xylan esterase의 고집적화를 위하여 균 일한 형태의 구조체를 형성을 유도하고 이를 고정화하는 시스템을 구축한다. 이를 TEM, Flow cytometry, Fluorescence Microscope을 특성을 분석한다. Crosslinked enzyme aggregates (CLEA) 방법을 통하여 단위면적당 효소의 고집적화를 유도하고 SEM과 활성측정을 통하여 효율을 측정한다.



연구방법 4. 탄수화물계열의 기질의 합성 및 저온성 탄수화물 가수분해효소의 분석

Xylan등 탄수화물 계열의 기질의 화학적 합성 및 수득률 향상 관련 연구를 위하여 저온성 탄수화물 가수분해효소의 활성 측정 및 저온 특이성에 관한 구조와 기능간의 상관관계 분석한다. 또한, 가수분해뿐만 아니라 탄수화물계열의 에스테르의 합성과정에 효소의 활용방법 모색하고 산업적 부가가치가 큰 방향성 에스테르합성반응의 효소활용가능성을 탐구한다.



2-2. 연구개발 추진체계



[연구추진전략 1] 다학제간의 공동연구 추진

본 연구진은 생화학, 구조생물학, 미생물학, 유전공학, 분자/세포생물학등에 관한 다양한 연구 경험 및 연구성과의 도출이 가능하므로, 다학제간의 공동연구의 추진을 통하여 연구개발의 진행을 빠르게 할뿐더러 연구성과의 질적향상을 도모하고자 합니다. 구체적으로, 단백질의 구조

분석과 관련하여는 성균관대 및 극지연구소와 공동연구를 추진하고자 하며, 광학이성질 저해제와 관련한 유기화합물질의 합성 및 의약화학적 응용은 KIST 및 가톨릭의과대학의 연구진들과의 공동연구를 진행하고 있습니다.

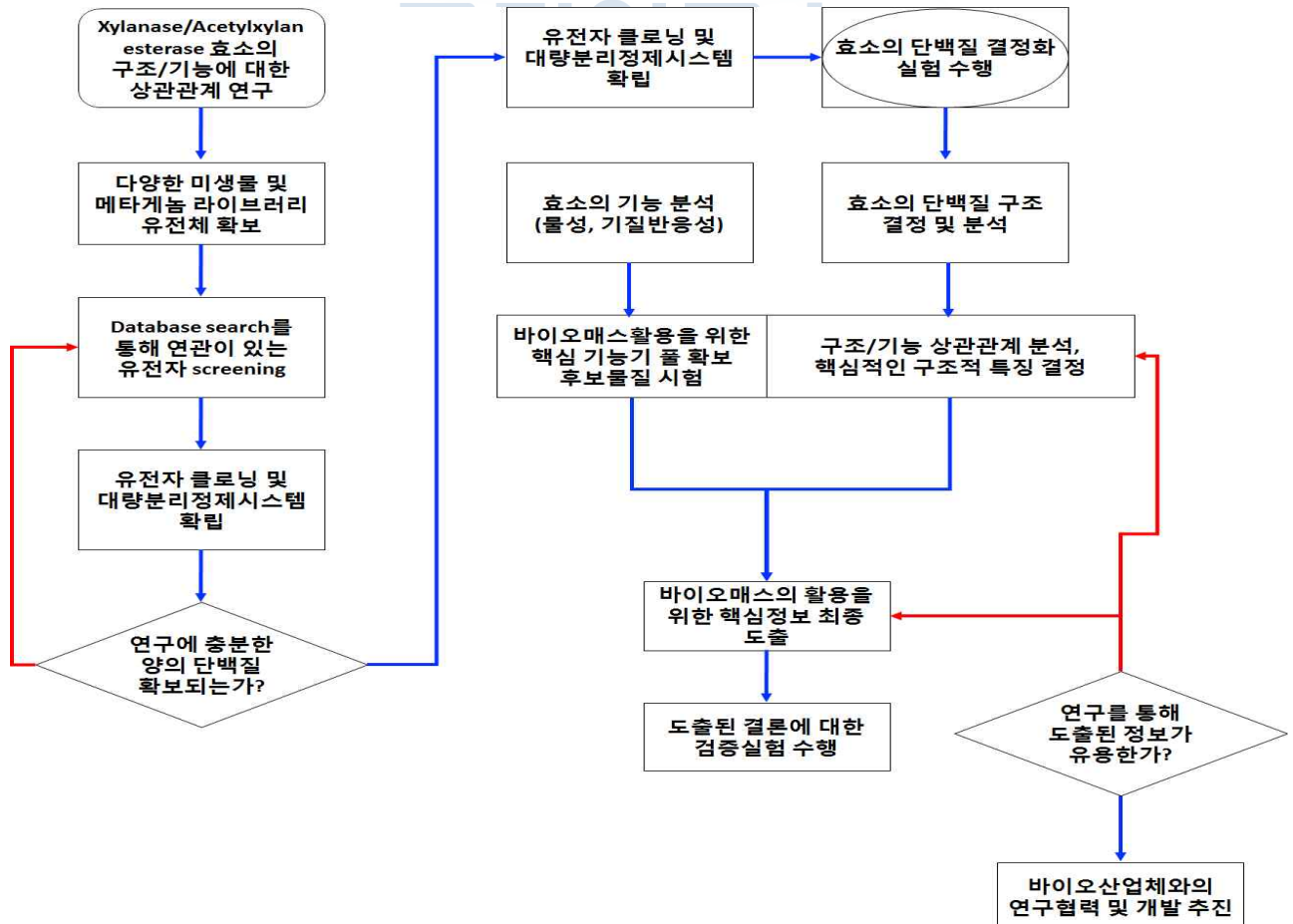
[연구추진전략 2] 연구결과의 공유 및 공동활용을 통한 연구네트워크의 구성

본 연구과제의 주제인 Class C β -lactamase family 및 광학이성질 저해제에 대한 정보들은 기초학문적인 중요성과 더불어 많은 응용가능성을 가지고 있으므로, 본 연구진뿐만 아니라 국내/외의 많은 실험실 및 연구집단들의 주요한 연구관심사항입니다. 현재, 이 Class C β -lactamase family에 대한 생화학적인 정보가 극히 적은 상황이므로, 본 연구과제의 결과로 얻어진 정보들을 공개할뿐더러, 연구과정에서 획득한 유전자와 단백질들을 국내외의 연구자들에게 무료로 제공할 예정입니다. 이러한 연구 결과의 공개 및 확산을 통하여 관련 연구자들의 편의를 도모하는 동시에 본 연구진들은 이 분야에 학문적인 영향력이 큰 연구 집단으로 성장하고자 합니다.

[연구추진전략 3] 연구결과의 실용화를 추진

본 연구과제의 주제인 Class C β -lactamase family의 구조와 기능에 관한 정보, 그리고 광학이성질 저해제들은 기초과학적 중요성과 더불어서 신규항생제의 개발에도 활용될 수 있을뿐더러 기존 항생제의 효율향상에도 크게 기여할 수 있으므로 관련바이오기업에 대한 기술 및 노하우의 이전이 가능하리라고 생각됩니다. 예를 들어, 기존의 β -lactam 계열의 항생제와 더불어 본 연구과제에서 개발하고자 하는 광학이성질 저해제의 동시활용을 통하여 기존 항생제의 효율을 크게 향상시킬 수 있을 것이라고 생각됩니다. 현재, 전 세계적으로 신규항생제의 개발이 상당히 느리게 진행되고 있는 상태이므로, 본 연구과제에서 목표로 삼는 Class C β -lactamase의 광학이성질 저해제에 관한 연구가 효과적으로 진행된다면 제약업계로의 기술이전 및 실용화가 가능할 것으로 판단됩니다.

[연구진행순서도]



3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

A. 메타게놈라이브리에서 분리한 Est-Y29의 구조를 결정하였으며 광학이성질 현상의 원인에 대한 분자적인 이론을 제시하였음

- 이전연구에서 얻어진 Est-Y29의 구조를 결정하였으며 구조와 기능과의 상관관계의 해석을 바탕으로 광학이성질 현상에 대한 이론을 제시하였음.

- 방향족 아미노산이 티로신과 페닐알라닌이 소염진통제의 원인물질인 케토프로펜과 나프록센의 광학이성질 현상을 조절하는 주요 아미노산임을 밝힘.

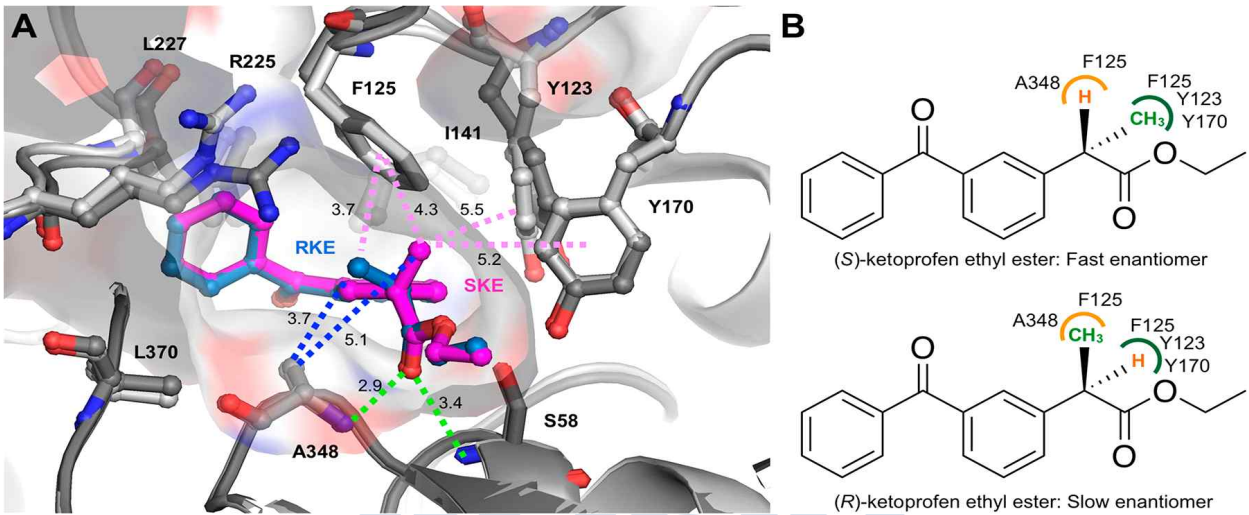


그림: Est-Y29와 광학이성질체인 ketoprofen ethyl ester의 결합부위에 대한 구조분석

- 단백질구조 및 기질복합체의 연구를 통하여 주요한 결합부위를 확인하였으며 이를 바탕으로 돌연변이체의 제조 및 분자수준의 이해를 가능케 함.

- 현재까지 알려진 광학이성질 현상에 대한 가장 자세한 구조적인 성과인 동시에 산업계에서 널리쓰이는 광학이성질체의 효소공정을 통한 합성가능성에 주요한 방향을 제시.

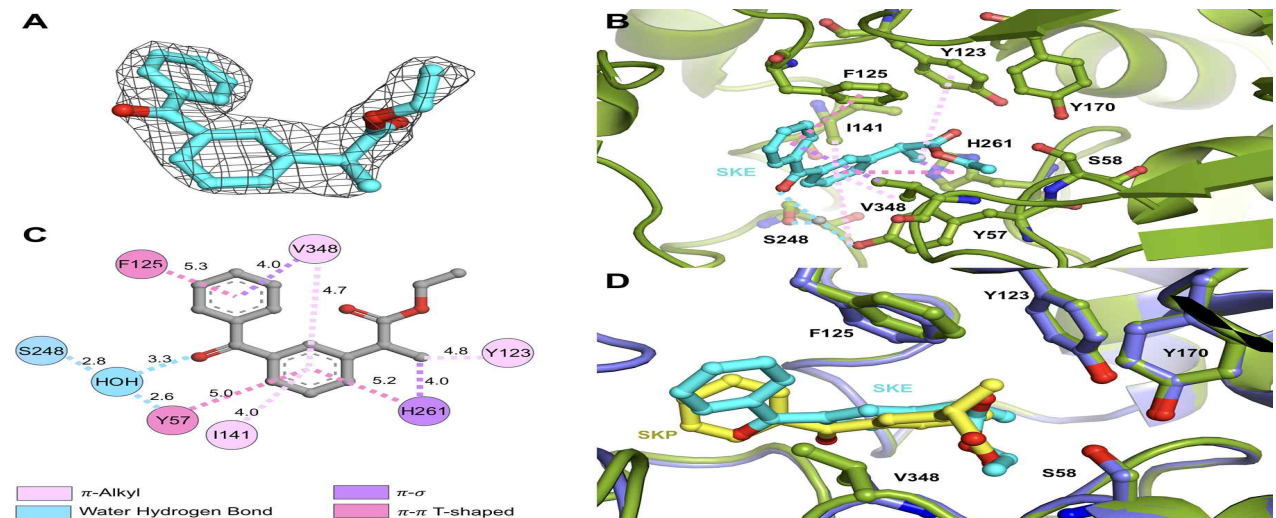


그림: Est-Y29와 리간드의 비공유결합(수소결합, pi-pi 결합)에 대한 분석

B. DNA 나노구조체의 합성을 통하여 의약품의 전달매개체로서의 가능성을 확인하고 이를 생물 공정에 전환할 수 있는 이론적인 가능성을 제시하였음.

- 퇴행성 뇌질환에 대한 연구의 시급성 및 중요성을 인지하고 이에 대한 주된 연구방향의 하나로서 DNA 나노구조체에 대한 연구를 진행하였음.
- 다양한 생화학실험을 통하여 DNA 나노구조체의 유용성을 확인하였으며 이를 저온성 유래 효소의 활용에 적용할 수 있는 시스템을 구축하였음.

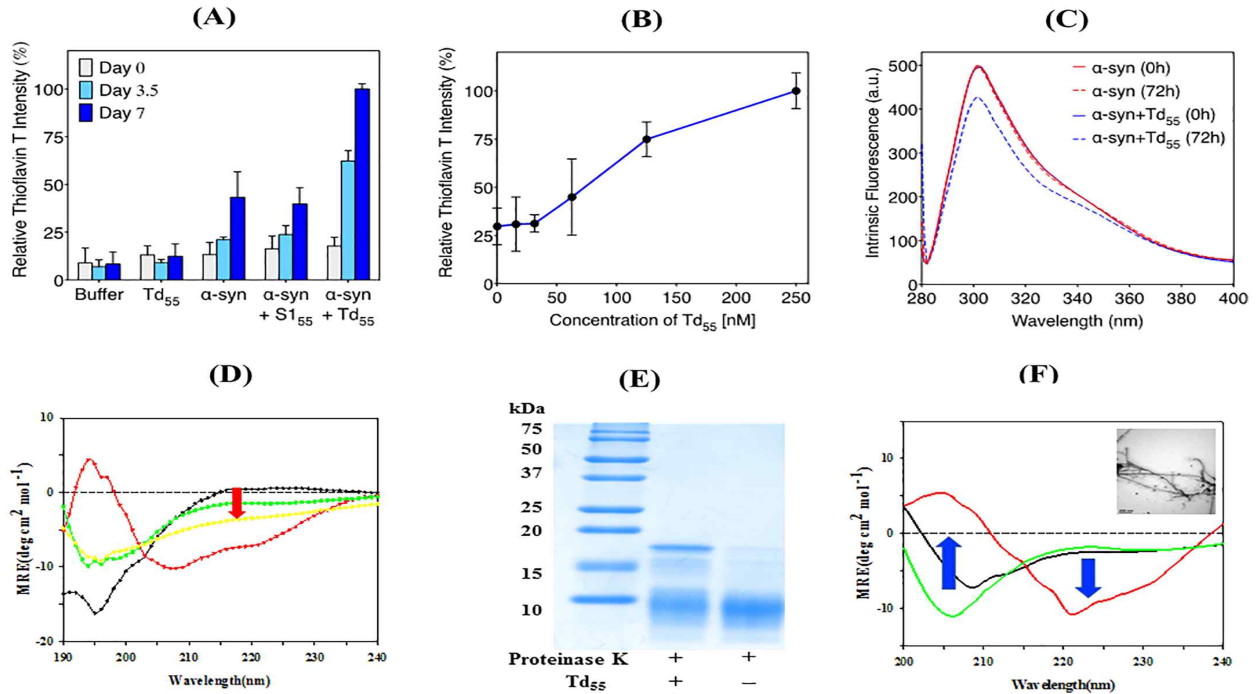


그림: DNA 나노구조체의 특성을 다양한 생화학적 방법으로 분석하였음

- Atomic force microscopy 및 FACS 실험을 통하여 DNA 나노구조체의 영향 및 기능에 대한 구체적인 정보를 얻음.
- 현재까지 알려진 다양한 화합물들의 유용성을 테스트할 수 있는 시스템을 구축하였으며, 이를 바탕으로 저온성 효소의 특성에 대하여도 분자수준의 정보를 얻을 수 있을 것으로 파악됨.

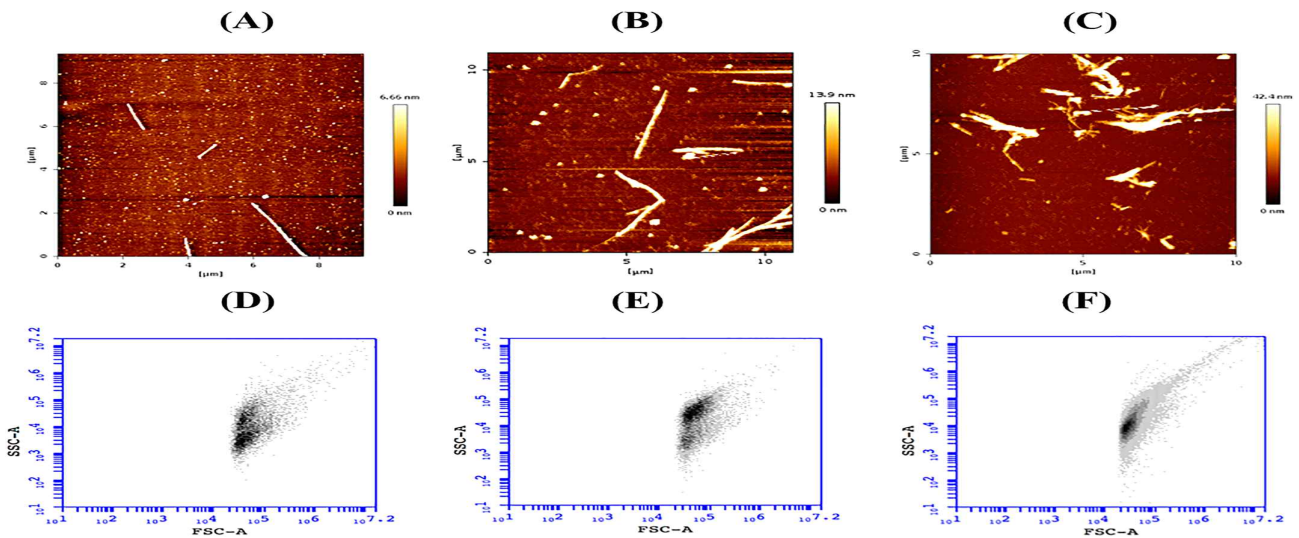


그림: AFM 및 FACS를 이용하여 DNA 나노구조체의 영향을 분석하고 차이점을 규명함

C. 극지미생물인 *Exiguobacterium antarctic*로부터 fumaryl acetoacetate hydrolase (EaFAH) 효소의 연구

- EaFAH의 생화학적인 분석을 위하여 SDS-PAGE, Native PAGE, Overlay assay, gel filtration, Mass spectrometry, Dynamic light scattering, Circular Dichorism를 수행하였음.

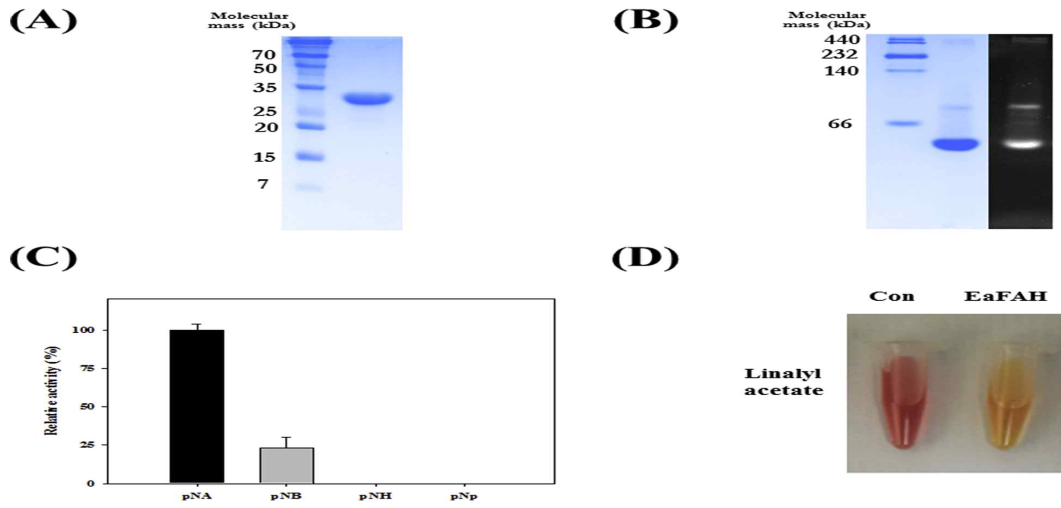


그림:EaFAH의 분리 및 활성측정을 통하여 특성을 규명함

- 단백질구조분석으로 통하여 기능에 주요하다고 생각되는 부위의 분자수준의 정보를 획득하였으며, 이를 바탕으로 돌연변이체의 제조를 진행하였음.
 - 이분야의 효소에 대한 연구가 상당히 부족함을 고려할 때 본 연구성과는 산업계의 응용가능성이 크다고 판단되고 후속연구를 진행하고 있음.

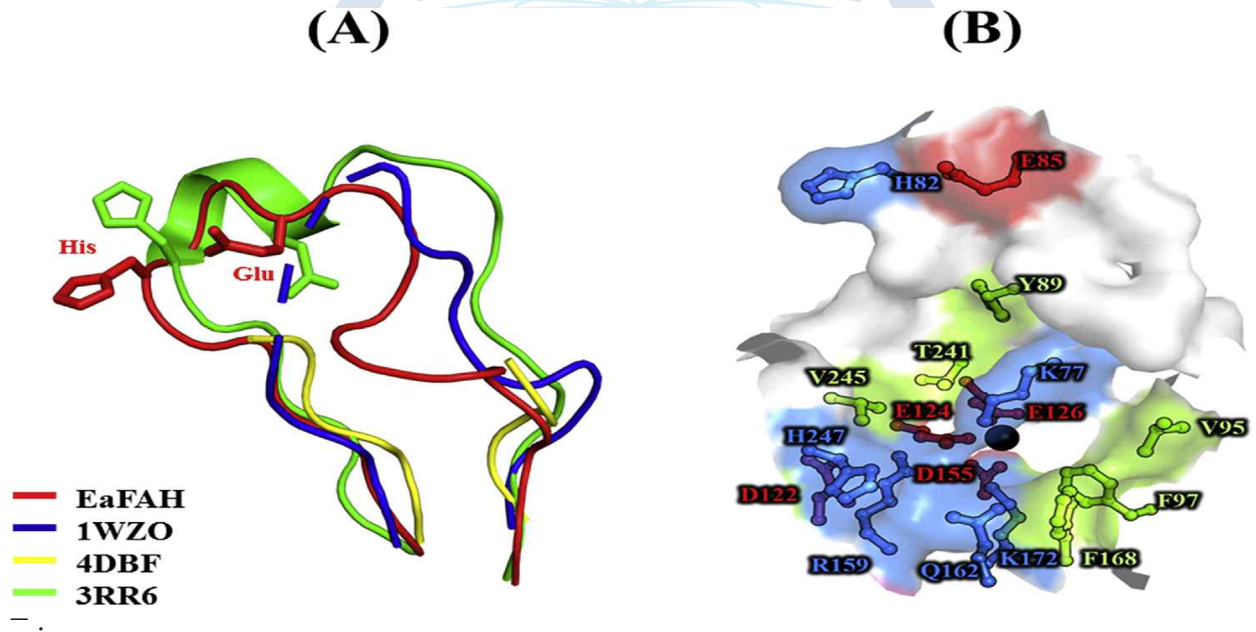


그림:EaFAH의 기질결합부위의 구조분석을 통하여 기질결합과정을 추론함

D. 극지미생물인 *Exiguobacterium antarctic*로부터 S-formylglutathione hydrolase (S/SFGH) 효소의 연구

- S/SFGH의 활성측정을 위해서 다양한 기질을 사용하여 특성을 확인하였으며 4-mu acetate의 활성측정을 통하여 catalytic residue를 확인하였음
 - 저온활성효소 S/SFGH의 특성을 확인하기위하여 temperature sensitive assay 및 CD spectra, Fluorescence spectra를 측정하였음.

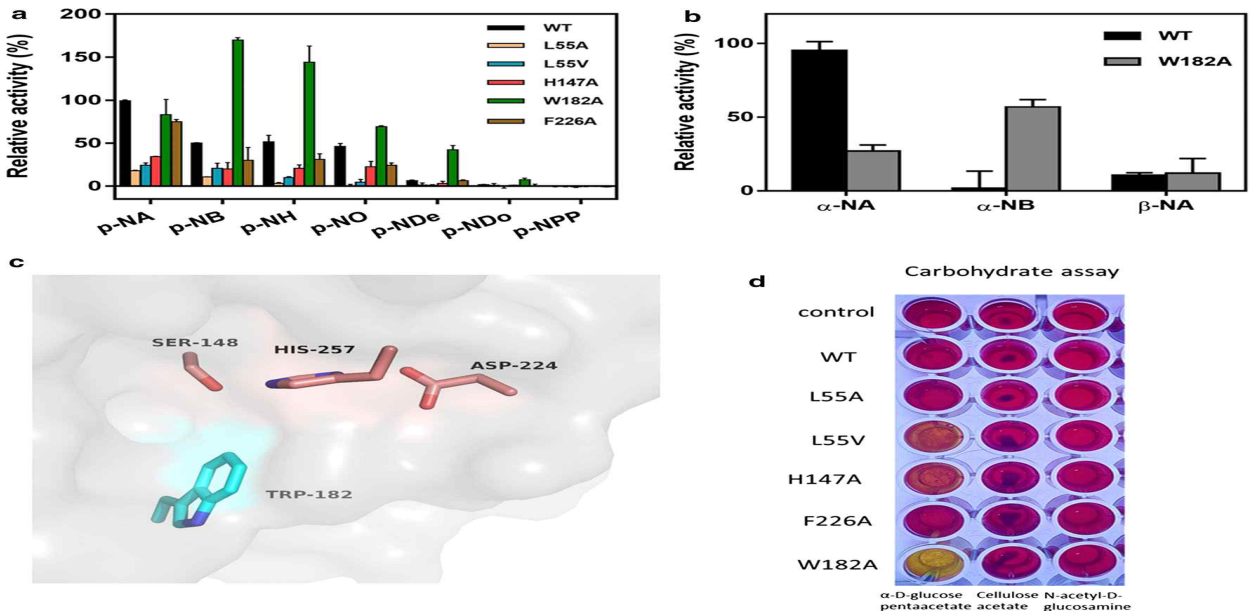


그림: 다양한 기질에 대한 활성측정 및 돌연변이체의 생성을 통하여 S/SFGH의 특성구명

- S/SFGH를 기능에 주요한 역할을 할 것으로 파악되는 부위를 돌연변이체의 확보를 통하여 그 기능의 중요성을 확인하였음. S159A의 경우 활성을 대부분 잃어버리는 경향을 보였고, 이는 S159가 catalytic nucleophile로서 활용되는 것에 기인한다고 파악됨.
- L257A의 경우에는 hydrophobic tunnel을 형성하는 아미노산으로서 hydrophobicity의 변화는 기질에 대한 접근성이 감소되는 효과가 있으므로 전체적인 활성이 크게 떨어지는 것으로 파악됨.

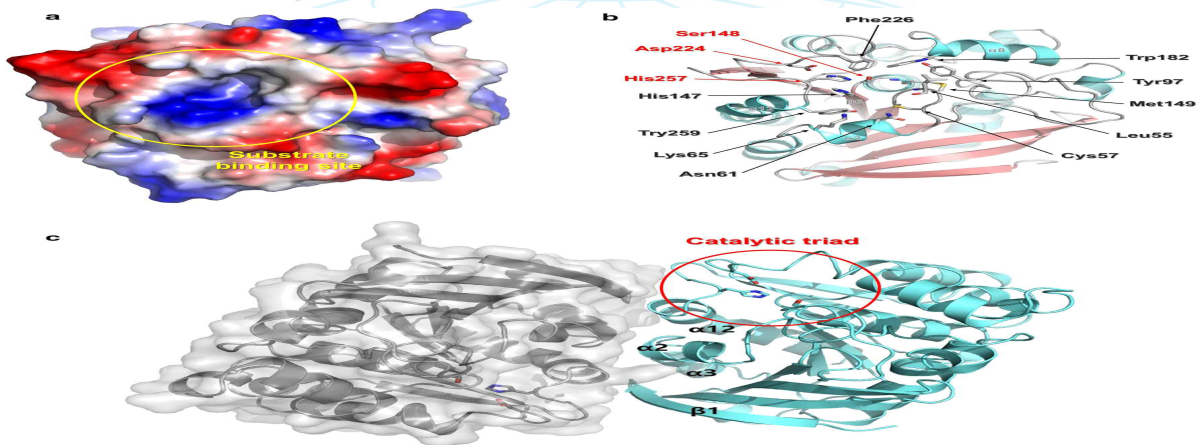


그림: 단백질구조분석을 S/SFGH의 효소로서의 기능 및 특성을 비교확인하였음

E. Neisseria meningitides로부터 광학활성을 지닌 신규 SGNH family esterase (NmSGNH1) 효소의 연구

- NmSGNH1의 기능조절부위에 대한 아미노산들의 보존양상을 파악함.
- 아미노산 보존분석으로부터 대략 5-6개의 아미노산이 주요한 역할을 하는 것으로 파악되고 2개의 작은 helix부위와 하나의 커다란 helix 그리고 이들을 연결하는 loop 부분들이 기능조절부위를 이루고 있음을 파악함.
- NmSGNH1를 crosslinked enzyme aggregate (CLEA) 방법을 통하여 고정화하였으며, 고정화된 효소를 SEM으로 측정 확인하였음.
- CLEA-NmSGNH1을 다양한 화합물의 존재하에서 비교정화효소와의 상대적인 비교를 통하여 고정화의 특징 및 활용가능성에 대한 분석을 수행하였음.
- CLEA-NmSGNH1은 높은 활성도와 많은 사용빈도를 가질 수 있으나, 초기의 고정화 과정에 대한 최적화 연구가 필요한 것으로 판단됨.

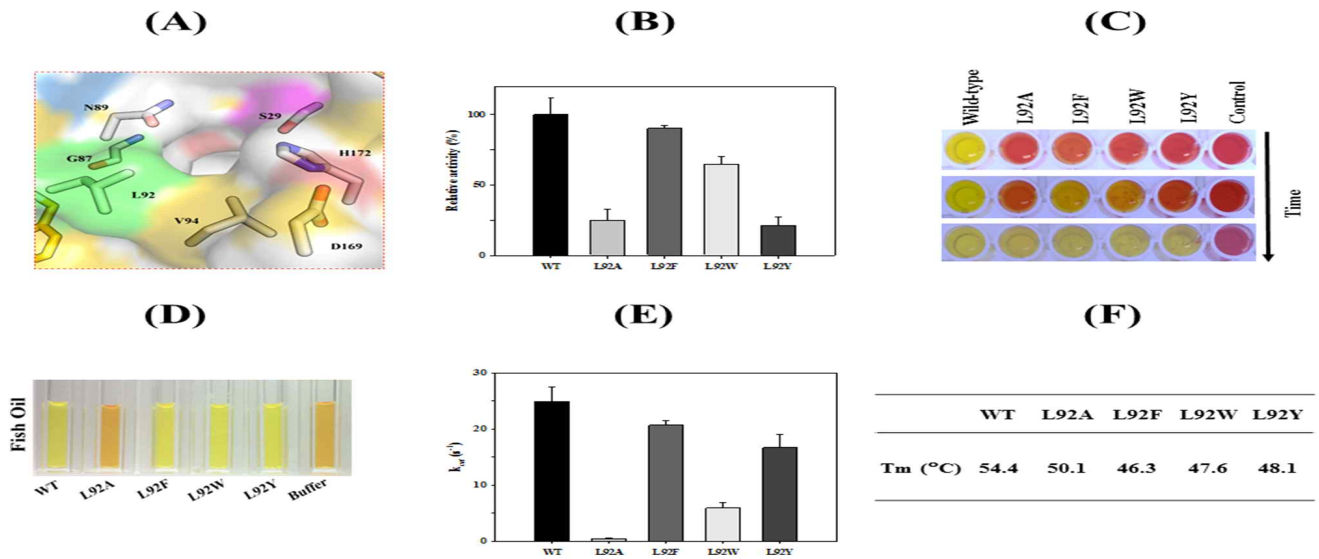


그림: NmSGNH1의 특성을 분석하기 위하여 다양한 돌연변이체의 제작 및 특성분석

F. 극지미생물인 *Exiguobacterium antarctic*로부터 cold-active acetyltransferase (EaAcE) 효소 연구

- EaAcE의 반응속도론적 분석을 통하여 Michaelis-Menten의 반응을 따르고 있음을 확인하였으며, 세가지 종류의 기질에 대한 반응속도론적인 특성값(parameters)를 측정하였음.
- EaAcE은 p-NC2, p-NC4, p-NC6의 기질에 대한 Km값으로 0.11~0.15 mM의 값을 가지며, kcat 값으로 0.85~3.86 1/s의 값을 이합체(dimer)인 것으로 판단되며 CD spectra로 미루어 alpha/beta hydrolase fold인 것으로 확인되었다. 또한, 생리적인 조건에서 dynamic equilibrium을 이루는 것으로 생각됨.

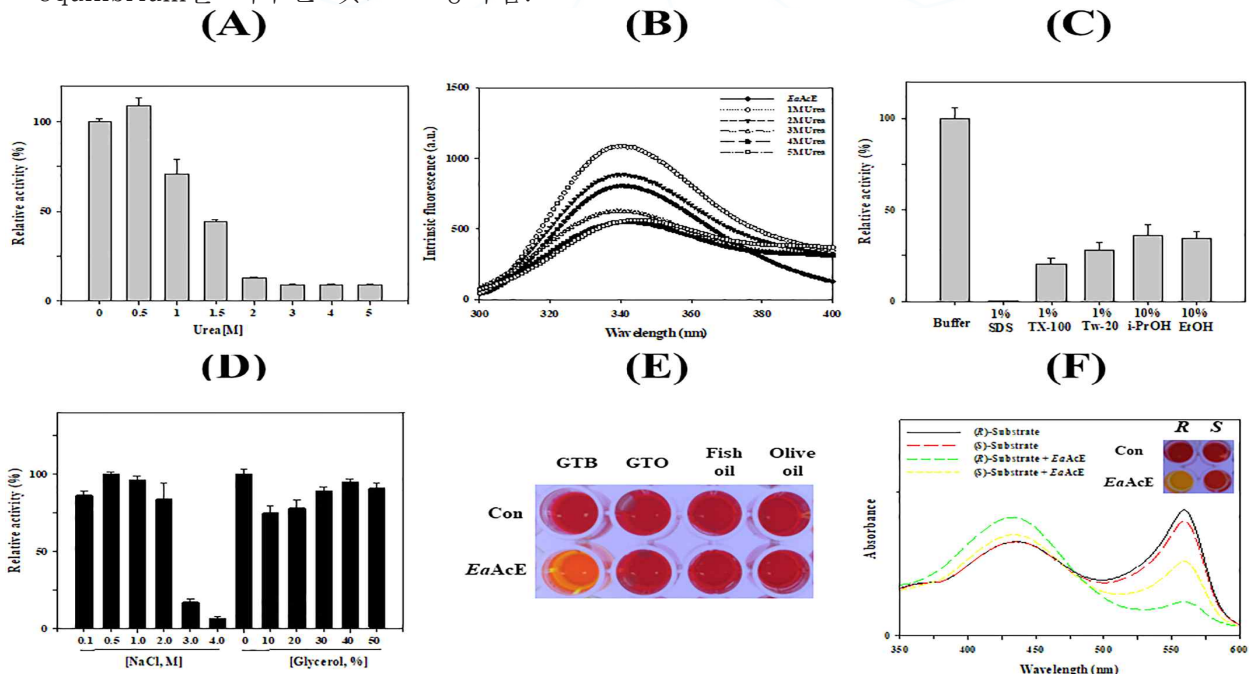


그림: EaAcE의 다양한 조건에서의 안정성 및 산업용 효소로서의 가능성을 확인

- EaAcE의 안정성을 알아보기 위하여 다양한 화합물 존재하에서 활성을 측정하였으며, 대표적으로 유기화합물, 계면활성제, 요소존재하에서의 안정성을 알아보았음.
- 또한, 저온활성과 연관되어 freezing-thawing cycle를 진행하였으며 8회이상의 측정후에도 90% 이상의 아주 높은 활성을 나타내는 것을 확인하였음.

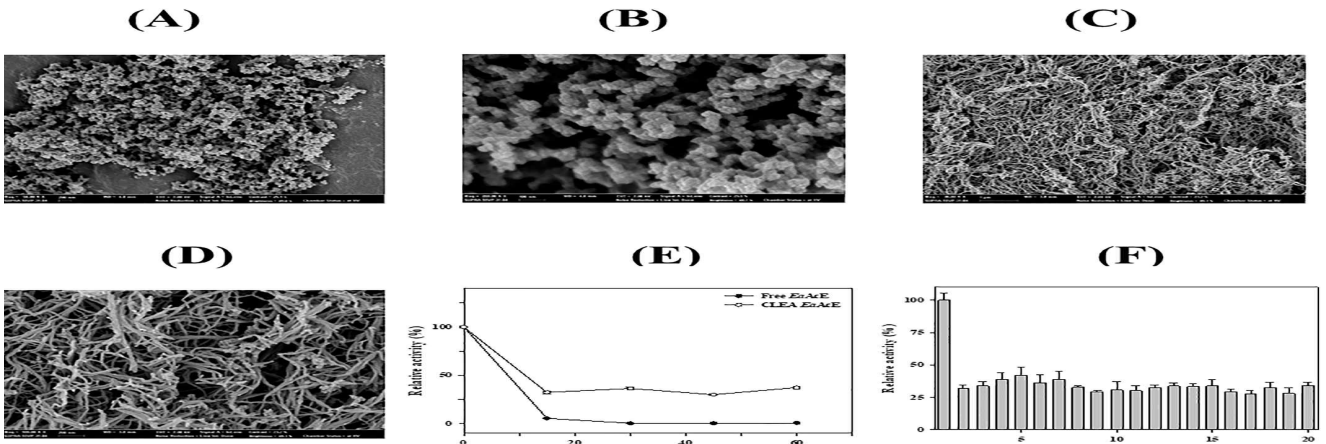
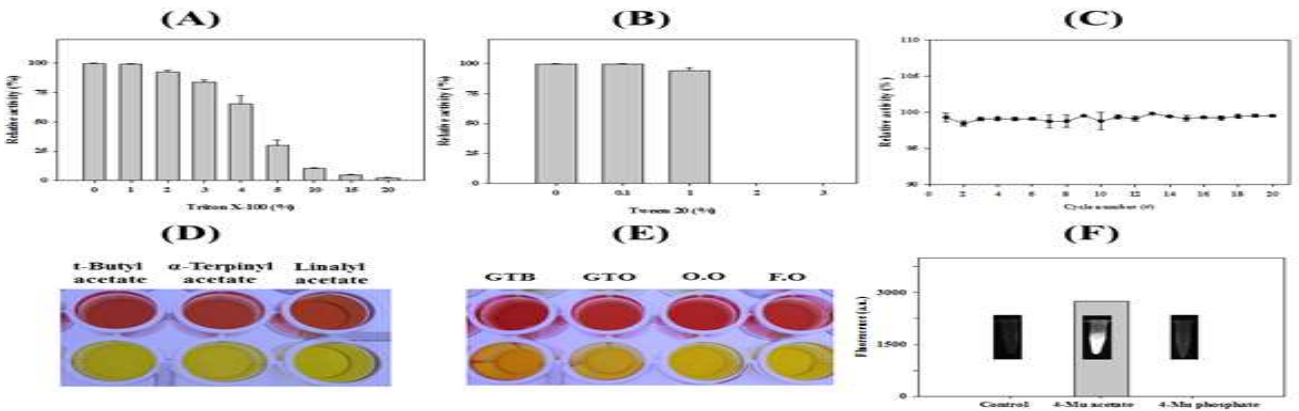


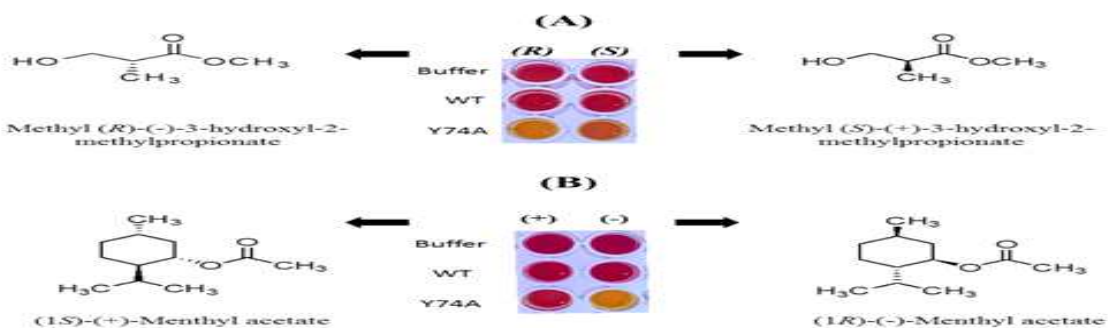
그림: 고정화를 통하여 *EaAcE*의 활성을 유지하고 재활용이 가능하도록 개량화진행하였음
 G. 극지미생물인 *Halocynthiibacter Arcticus*로부터 cold-active Hormone-Sensitive Lipase (*HaHSL*) 효소의 연구

- 기능조절부위에 대한 아미노산 보존부위에 대한 돌연변이체를 제작하고 이들의 활성을 측정하였음.
- 기능조절부위의 단백질의 안정성에 대한 영향을 파악하기 위하여 CD spectra를 이용하여 Tm값을 측정하고 이를 비교하였음. 전체적으로 돌연변이체의 경우 낮은 열역학적인 안정성을 보이고 있으며 활성과는 반대의 성향을 보임.
- 다양한 기질에 대한 반응성을 측정하여 released acetic acid의 양에 대한 정량적인 표를 확보하였음



- 그림: 다양한 기질과의 반응성 확인을 통한 *HaHSL*의 산업용 효소로서의 가능성을 확인

- 기능조절부위에 대한 돌연변이체들을 이용하여 naproxen의 deacetylation process에 관한 반응의 진행정도를 측정하였음.
- 각 돌연변이체마다 다른 enantiomeric excess를 가지는 것이 관찰되었으며 일반화하기는 아직 어려운 면이 있음.
- 그중 Y74A가 반응성의 향상이 크고 특징적인 반응을 보여준다고 판단됨.



- 그림: 광학이성질현상의 이해를 위하여 돌연변이체를 제작하고 특성규명을 진행하였음

H. 극지미생물인 *Paenibacillus sp.*로부터 β -lactamase activity (*PsEstA*)를 갖는 효소의 연구

- 신규 항생제의 개발 및 항생제분해효소에 대한 작용기작연구를 위하여 락탐계열의 항생제를 분해하는 효소에 대한 연구를 진행하였음.
- Nitrocefin, cefotaxim, 7-ACA에 대한 분해능을 확인하고 이를 분자수준에서 설명하고자 하였음.

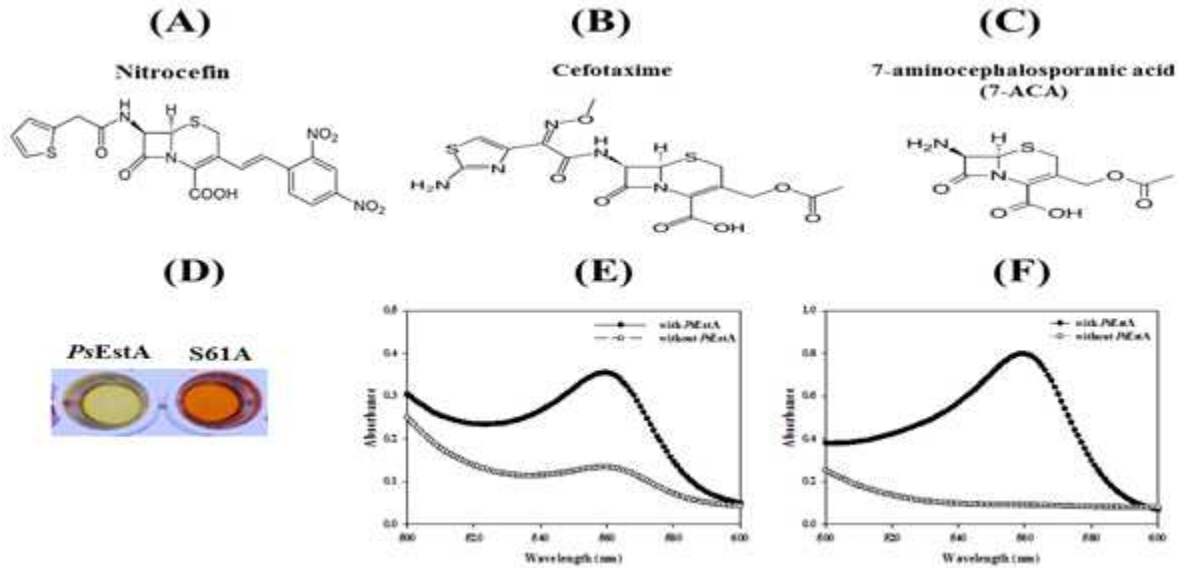


그림: 항생제에 대한 분해능 실험을 통해서 *PsEstA*의 특성을 규명하고 확인하였음

- *PsEstA*의 안정성을 알아보기 위하여 다양한 화합물 존재하에서 활성을 측정하였으며, 대표적으로 유기화합물, 계면활성제, 요소존재하에서의 안정성을 알아보았음.
- 또한, 특징적인 나노꽃모양의 형성을 통하여 활성을 유지하고 지속시킴을 확인하였음.

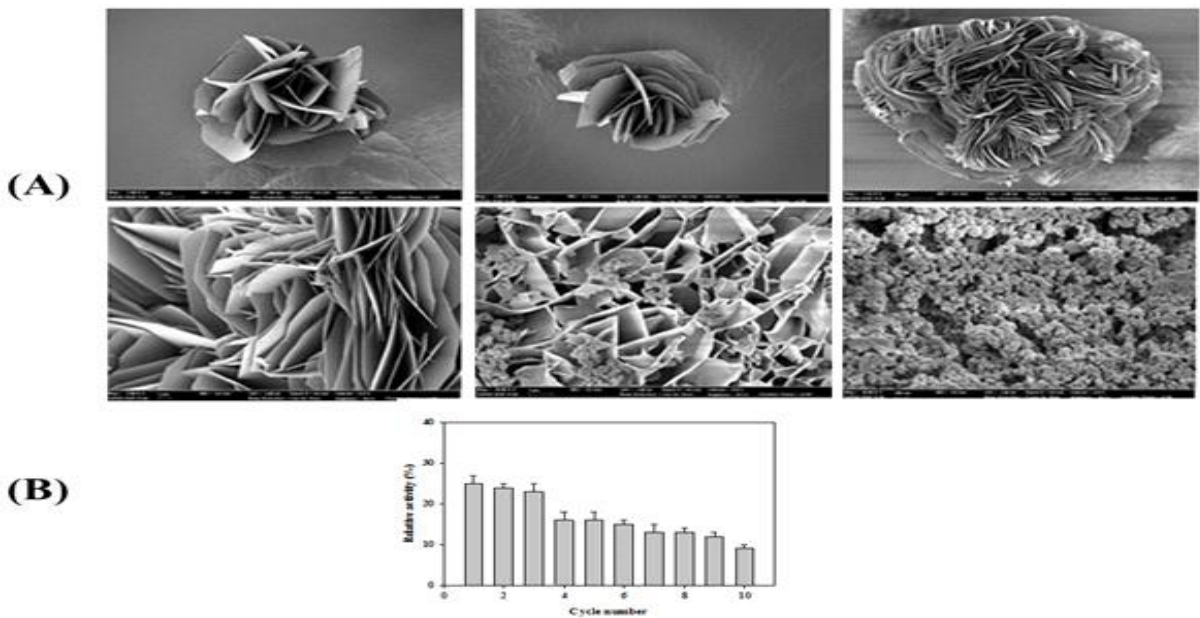


그림: 나노구조형태의 혼합형 구조체를 제작하고 이를 통하여 *PsEstA* 고정화를 진행

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

< 정량적 연구개발성과표(예시) >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명	연도	1단계 (YYYY~YYYY)		n단계 (YYYY~YYYY)		계	가중치 (%)
		목표(단계별)	실적(누적)	목표(단계별)	실적(누적)		
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾		목표(단계별)					
		실적(누적)					
		목표(단계별)					
		실적(누적)					
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾		목표(단계별)					
		실적(누적)					
		목표(단계별)					
		실적(누적)					
계							

* 1) 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[에스시아이 Expanded(SCIE), 비SCIE, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신물질 등을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.

* 2) 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도, 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 설계 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다 (연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다).

< 연구개발성과 성능지표(예시) >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치		목표설정 근거
			보유국/보유기관	성능수준	성능수준	1단계 (YYYY~YYYY)	n단계 (YYYY~YYYY)	
1								
2								

* 1) 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.

* 2) 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Molecular characterization of a novel family VIII esterase with β -lactamase activity from <i>Paenibacillus sp.</i>	Biomolecules	권세나	9(12)	국제	MDPI	SCI	2019		
2	Molecular characterization of a novel cold-active hormone-sensitive lipase (HaHSL) from <i>Halocynthiibacter arcticus</i>	Biomolecules	Ly Thi Huong Luu Le	9(10)	국제	MDPI	SCI	2019		
3	Structural and functional characterization of a novel coldactive S-formylglutathione hydrolase (SfSFGH) homolog from <i>Shewanella frigidimarina</i> , a psychrophilic bacterium	Microbial Cell Factories	이창우	18	국제	BioMed Central	SCI	2019		
4	A novel enantioselective SGNH family (NmSGNH1) from <i>Neisseria meningitidis</i> . Characterization, mutational analysis, and ester synthesis.	Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Biol. Lipids	유완기	1864	국제	Elsevier	SCI	2019		
5	Characterization, immobilization, and mutagenesis of a novel cold-active acetyl esterase (EaAcE) from <i>Exiguobacterium antarcticum</i> B7	Int. J. Biol. Macromol.	왕영	136	국제	Elsevier	SCI	2019		
6	Structural and functional analysis of a dimeric fumarylacetoacetate hydrolase (EaFAH) from psychrophilic <i>Exiguobacterium antarcticum</i> .	Biochem. Biophys. Res. Comm.	유완기	509	국제	Elsevier	SCI	2019		
7	Modulating α -synuclein fibril formation using DNA tetrahedron nanostructures	Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.	유완기	183	국제	Elsevier	SCI	2019		
8	Structural Basis for the Enantioselectivity of Esterase Est-Y29 toward (S)-Ketoprofen	ACS Catalysis	Tri Duc Ngo	9	국제	ACS	SCI	2019		
9	Bacterial Hormone-Sensitive Lipases (bHSLs): Emerging Enzymes for Biotechnological Applications	J. Microbiol. Biotechnol.	김두현	27	국내	한국미생물생명공학회	SCI	2017		

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
10	Identification and Crystallographic Analysis of a New Carbohydrate Acetyltransferase (SmAcE1) from <i>Sinorhizobium meliloti</i>	Crystals	오창석	8	국제	MDPI	SCIE	2018		
11	Identification, characterization, and immobilization of a novel YbfF esterase from <i>Halomonas elongata</i>	Int. J. Biol. Macromol.	유완기	165	국제	Elsevier	SCI	2020		
12	Biodiesel and flavor compound production using a novel promiscuous cold-adapted SGNH-type lipase (HaSGNH1) from the psychrophilic bacterium <i>Halocynthiaibacter arcticus</i>	Biotechnol Biofuels	Ly Thi Huong Luu Le	13	국제	BioMed Central	SCI	2020		

극지연구소

210mm×297mm [(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	대한화학회 춘계학술대회	Wang Ying, 김두현	201704	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
2	대한화학회 춘계학술대회	Wang Ying, 김두현	201704	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
3	대한화학회 춘계학술대회	유완기, 김부영, 김두현	201704	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
4	대한화학회 춘계학술대회	유완기, 김부영, Wang Ying, 김두현	201704	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
5	대한화학회 춘계학술대회	유완기, 김부영, Wang Ying, 김두현	201704	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
6	대한화학회 춘계학술대회	김부영, 유완기, Wang Ying, 김두현	201704	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
7	대한화학회 춘계학술대회	Wang Ying, 김두현	201704	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
8	한국미생물학회 학술대회	유완기, 김두현	201804	평창 알펜시아 컨벤션센터	대한민국
9	한국미생물학회 학술대회	유완기, 김두현	201804	평창 알펜시아 컨벤션센터	대한민국
10	한국미생물학회 학술대회	Ly, 김두현	201804	평창 알펜시아 컨벤션센터	대한민국
11	한국미생물학회 학술대회	유완기, 김두현	201804	평창 알펜시아 컨벤션센터	대한민국
12	한국미생물학회 학술대회	Ly, 김두현	201804	평창 알펜시아 컨벤션센터	대한민국

	회				
13	한국미생물학회 학술대회	Ly, 김두현	201804	평창 알펜시아 컨벤션센터	대한민국
14	대한화학회 추계학술대회	유완기, 김두현	201810	대구 엑스코	대한민국
15	대한화학회 추계학술대회	유완기, 김두현	201810	대구 엑스코	대한민국
16	대한화학회 추계학술대회	유완기, 김두현	201810	대구 엑스코	대한민국
17	대한화학회 추계학술대회	Ly, 김두현	201810	대구 엑스코	대한민국
18	대한화학회 추계학술대회	Ly, 김두현	201810	대구 엑스코	대한민국
19	대한화학회 추계학술대회	Ly, 김두현	201810	대구 엑스코	대한민국
20	대한화학회 추계학술대회	유완기, 김두현	201810	대구 엑스코	대한민국
21	미생물연합학회 학술대회	유완기, 김두현	201910	세종대 학교 컨벤션센터	대한민국
22	미생물연합학회 학술대회	유완기, 김두현	201910	세종대 학교 컨벤션센터	대한민국
23	미생물연합학회 학술대회	전상은, 유완기, 김두현	201910	세종대 학교 컨벤션센터	대한민국
24	미생물연합학회 학술대회	전상은, 유완기, 김두현	201910	세종대 학교 컨벤션센터	대한민국
25	미생물연합학회 학술대회	유완기, 김두현	201910	세종대 학교 컨벤션센터	대한민국
26	미생물연합학회 학술대회	전상은, 유완기, 김두현	201910	세종대 학교 컨벤션센터	대한민국
27	한국미생물학회 학술대회	김두현	201704	세종대 학교 컨벤션센터	대한민국

극지연구소

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		

사업화 계획 및 무역 수치 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내			
국외					
무역 수치 개선 효과(천원)	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획				
	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출				

고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			yyyy년	yyyy년	
합계					

고용 효과

구분			고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력		
		생산인력		
	개발 후	연구인력		
		생산인력		

비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

[사회적 성과]

법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황																	
			학위별				성별		지역별											
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타							

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)
(14쪽 중 11쪽)]

[인프라 성과]

연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ Acetyl xylan esterase로부터 산업적 응용가능성 탐색 및 효소적용응용화 1건 이상	<ul style="list-style-type: none"> • 박테리아의 Acetyl xylan esterase 에 대한 활용가능성 탐색 	100
○ Acetyl xylan esterase 및 관련 효소의 응용가능성 탐색연구 2건 이상	<ul style="list-style-type: none"> • 다양한 기질 특이성을 갖는 Acetyl xylan esterase 가수분해효소들의 구조-기능의 상관관계에 따른 효소반응의 기작 이해 • 극지의 다양한 저온성 미생물로부터 관련효소를 탐색하고 생화학적 분석 • 돌연변이체의 제작 및 연구를 통하여 저온특이성에 관한 일반원리 도출 	100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

2) 자체 보완활동

3) 연구개발 과정의 성실성

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 목질계 바이오매스의 활용가능성을 높일 수 있는 xylanase 의 생산 및 응용기술을 탐구하고 실용화가능성을 논의하고자 함.
- 경제성을 고려한 바이오에너지의 생산을 위하여 극지미생물 유래의 xylanase 및 acetyl xylan esterase의 특성분석 및 재조합 단백질 생산 시스템 구축
- 얻어진 xylanase 및 acetyl xylan esterase를 통하여 극지미생물유래 효소의 특이성 및 구조적 변형가능성에 관한 정보 획득과 이를 활용한 경제성있는 화합물의 생산가능성 탐구
- 본 연구진의 주도하에 xylanase 및 acetyl xylan esterase에 관한 데이터베이스를 구축하고, 연구에서 얻어진 정보들을 널리 공유하고자 함.
- 본 연구과제의 결과로 얻어진 정보들은 공개적으로 제공할뿐더러, 연구과정에서 획득한 유전자와 단백질들을 국내외의 연구자들에게 제공할 예정이다. 이러한 연구 성과의 공개및 확산을 통하여 관련 연구자들의 편의를 도모하는 동시에 본 연구진들은 이 분야에 학문적인 영향력이 큰 연구 집단으로 성장하고자 함.

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

[기술적 측면]

- 극지생명자원을 활용하여 BT, IT, NT 등 융합학문을 촉진하여 극지생명공학 분야의 국가 경쟁력 제고
- 극지미생물 유래의 산업용 효소의 개발을 통하여 현재의 에너지위기에 대한 효과적인 대응책 마련에 대한 연구 및 기본기술 축적

[산업적 측면]

- 산업적으로 유용한 저온 활성 단백질 또는 유용물질의 발굴과 같은 실용화 연구로 관련 산업의 동반성장 효과
- 극지 생명공학 분야 국가 경쟁력 향상
- 새로운 신생명자원 개발 및 창조산업의 기반자원 제공

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1)
	2)
2.	1)
	2)

[뒷면지]

주 의

1. 이 보고서는 ○○부에서 시행한 ○○연구개발사업 ○○연구개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 ○○부(○○전문기관)에서 시행한 ○○연구개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.



210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]