

# 失敗 연속의 연구실험

- 끈질긴 挑戰 끝에 기적이... -

내가 유학하고 있던 동경대학 발효학연구실에서의 일이다. 석사과정 때는 '미생물에 의한 비타민 A 생산'이란 연구과제로, 또 박사과정에선 '치즈를 만드는데 필요한 송아지 rennet를 미생물이 생산하는 효소로 대체하는 연구'로 실험에 몰두했지만 거듭된 실패의 연속으로 나는 많은 어려움을 겪었다. 그러나 끈질긴 도전으로 획기적인 연구결과를 얻게 되어 그 연구개발경험을 소개한다.



柳 洲 鉉

(연세대 생명공학과교수/부총장)

**내**가 유학하고 있었던 동경대학 발효학연구실은 백여년의 전통을 가지고 있으며 40여명의 연구원으로 구성된 일본의 생물공학분야를 발전시키는데 크게 공헌한 유명한 곳이다. 화공과를 졸업한 나에게는 이 곳에서 하는 일의 대부분이 새로운 일이었다. 석사과정에 입학하면서 나에게 주어진 처음 연구과제는 '미생물에 의한 비타민 A의 생산'이었다. 이 연구는 흙으로부터 미생물을 분리하고 액체배양을 한 다음

배양액중 비타민 A가 있는지를 확인하는 방법으로 탐색해야 한다.

## 전공분야 달라 처음부터 試鍊

먼저 흙으로부터 미생물을 분리하기 위해 한천을 넣어 평판배지를 만들어야 한다. 한천은 가열하면 녹고, 냉각하면 굳어지는 성질을 가지고 있다. 한천을 넣은 배지를 가압 증기 살균한 다음 Petri dish에 부었으나 다른 사람과 같이 매끈하게, 굳지 못하고 울퉁불퉁하게 굳어 미생물을 분리하는데 사용할 수 없었다. 굳은 한천배지를 끊어 모아 플라스크에 넣고 다시 살균하여 평판배지를 만들었으나 같은 현상이 나타났다. 이러한 일을 되풀이하였으나 같은 현상이 일어나 쓰레기통에 버릴 수 밖에 없었다. 굳은 한천배지를 쓰레기통에 계속 버릴 수가 없었기 때문에 연구실의 모든 학생들이 퇴근한 저녁에 굳어있는 한천배지를 모아 증기 살균하여 녹인 다

음 수도꼭지로부터 더운 물을 내리면서 서서히 부어 버리고 집으로 돌아갔다. 다음날 아침에 연구실의 문을 열어보니 연구실 바닥에 물이 많이 고여 있었다. 싱크대의 수도꼭지가 열린 곳은 하나도 없었으나 다만 어제 저녁 한천배지를 버린 싱크대의 수도꼭지에서 물방울로 줄줄 흐르는 물이 싱크대를 짝 채워 넘쳐 흐르고 있었다. 수도꼭지를 잠가 보았으나 여전히 물이 떨어졌다. 아래층 연구실의 천정에서 물이 떨어진다고 연락이 왔다. 조교가 경험이 있는 듯이 싱크대의 밑에 있는 침전수집기의 뚜껑을 열어보더니 한천이 굳어 있다는 것이다. 어제 저녁에 버린 한천이 흘러 내려가는 도중에 냉각되어 굳었다는 것을 알게 되었다. 이 실수는 소수점 읽기 혹은 계산의 착오로 배지에 넣은 한천양을 1.5%로 해야 할 것을 10배가 되는 양을 넣었기 때문이었다. 이러한 실수로 '티끌 모아 태산이라'는 옛 격언과 같이 물방울로 계속 떨어지는 것을 시간이라 할 경우 눈에 보이지 않는 시간은 중요하다는 것을 다시금 깨닫게 하였다.

그 당시 목적하는 물질을 탐색하는데 정성법으로 Thin layer chromatography(TLC)법이 보급되고 있었다. TLC법으로 비타민 A류의 정성법을 개발한 다음 비타민 A 생산균 탐색을 시작하였다. 수천에 가까운 미생물을 사용하여 탐색하는 도중 TL 상에 표준물질인 비타민 A의 zone과 같은 Rf치 위치에 zone이 보였다. 그 당시 같은 Rf치에 발색 반응으로 같은 색의 zone이 나타나면 같은 물질이라고 알고 있었던 나에게는 기쁜 일이었다. 연

구 발표시간에 비타민 A를 생산하는 곰팡이 *Aspergillus awamori*를 탐색하였다는 내용을 자랑삼아 보고하였다. 교수로부터 축하한다는 말씀을 들었다. 탐색한 미생물을 플라스크에서 대량 배양하여 정제한 다음 결정을 분리하고 UV, IR로 분석하여 검토한 결과 비타민

A와 다르고, 보고되어 있는 곰팡이가 생산하는 황색색소와도 다른 새로운 물질이라는 것을 알았다. 이것이 두번째의 실수였다.

### 밤샘 실험에도 結實 못얻어

새로운 물질은 구조식을 결정할 경우 많은 양의 결정이 필요하므로 결정을 얻기 위하여 플라스크로 수없이 배양하였으나 최종단계에서 얻어지는 양이 너무나 적었다. 이러한 일을 수없이 되풀이하고 있을 때 교수로부터 상교제약(주) 연구소에 부탁하여 발효조로 200L를 배양한 다음 추출하여 농축한 것을 얻었다. 이것을 정제하여 쉽게 100mg을 얻었다. 이 양은 구조식을 결정하는데 충분한 양이었다. 곰팡이로부터 새로운 황색색소를 분리하여 구조식을 결정할 무렵이다. 그 당시 NMR, Mass 등의 새로운 기기분석기가 일본에서 제작되기 시작하고, 일본 화학회에서 기기분석법에 대한 강습회를 시작하는 무렵이었다. 새로운 황색색소의 구조식을 결정하기 위해 강습을 받고 독학으로 공부하면서 구조식을 결정하였다. 노란색의 새로운 색소이기 때문에 *Asperyllone*이라 이름을 지었다. 이 연구실에서 새로운 물질의 구조식을 결정한 일은 이것이 처음이다.



▲ 은사 아리마선생님과 함께 한 유주현교수(왼쪽)

박사과정에서는 치즈를 만드는데 필요한 송아지 rennet를 미생물이 생산하는 효소로 대체하자는 연구를 하게 되었다. 일반적으로 치즈를 만들 때 사용하는 효소 rennet를 생후 2내지 3주가 된 숫송아지를 도살하여 넷째 밥통을 잘라 위의 점액을 긁어 모은 것에서 추출하여 만들기 때문에 치즈를 만들기 위해 1년에 3천만마리 이상의 송아지를 죽일 수 밖에 없었다. 이 송아지 rennet를 대신 사용할 수 있는 효소를 개발하기 위해 미국과 유럽에 있는 동물학, 식물학 또는 미생물학 분야의 학자들이 연구해 왔으나 실용화되지 못하고 모두가 실패한 보고만 있었다. 우리는 흙으로부터 분리한 곰팡이(*Mucor pusillus*)를 밀기울에 배양하여 치즈 만드는 곳에 사용하는 효소를 발견하고 산업화에 성공하여 현재 세계 각국에서 사용하고 있다. 개발한 효소로 인하여 1년에 3천만두 이상의 송아지의 생명을 구하는데 도움이 되었다.

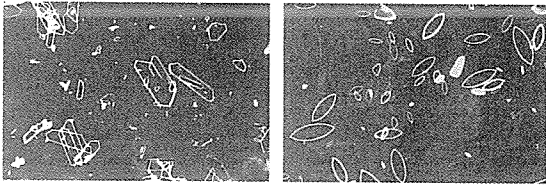
이 연구과제는 박사과정에 진학한 다음 지도교수와 박사학위 연구논문의 과제에 관해서 상의하여 결정한 연구과제이다. 선생님은 미생물이 생산하는 치즈를 만드는데 사용하는 효소를 정제하여 결정화시키려고 그 동안 조교 또는 대학원생이 연구해

왔으나 성공하지 못한 내용에 관해 설명을 하여 주신 다음 “너의 석사과정의 연구경험을 살려 연구할 경우 너는 반드시 성공시킬 수 있다고 생각되는데 이 연구과제를 연구하는 것이 어떠냐?”는 말씀이 계셨다. 나에게서는 새로운 분야의 연구이므로 연구에 어려움은 있으

나 좋은 기회라 생각되어 최선의 노력을 다하겠다는 말씀을 드리고 연구과제를 결정하였다. 연구과제를 결정할 당시만 하더라도 연구경험이 부족한 나에게 이 연구과제의 연구가 성공될 경우 세계적인 연구결과가 되리라고는 생각하지 못하고 좋은 논문을 만들기 위해 맡겨진 연구에만 최선을 다하여 노력하였다.

### 흐뭇한 지도교수 즉석 맥주파티

곰팡이가 생산하는 치즈제조용 유효효소를 칼럼(Column)으로 정제하여 황산암모늄을 넣어 침전시켰다. 침전된 효소를 완충액에 녹이고 알콜을 천천히 혼합하면서 결정화를 시켰다. 효소용액 중에 침전물이 생겨 그 침전물을 슬라이드 glass에 도말하여 관찰한 결과 정사각형의 투명한 결정이 보였다. 그동안 여러 사람이 시도하여 성공하지 못하고 지도교수가 이 효소만은 반드시 결정화하기를 바랐던 만큼 나에게서는 말할 수 없을 정도로 기쁜 일이었다. 연구실에 있는 친구들로부터 이 결정을 현미경으로 관찰하고 축하한다는 인사를 수없이 받았다. 결정을 현미경으로 확인할 때가 오후 8시경이었다. 아리마 교수가 상점에서 맥주 한박스를 주문하여 연구실 동료들과 같이 축하



▲ 일본농화학회상, 서울시 문화상, Denmark Novo상(생물공학분야) 등을 수상하게 한 치즈 제조용 Mucor rennin 결정

파티를 열어 주셨다.

다음날 아침에 일찍 등교하여 결정화된 효소액으로부터 결정을 원심분리하여 효소의 활성을 측정할 결과 효소활성이 없었다. 활성측정법이 잘못된 탓이 아닌가 하고 다시 효소활성을 측정하였으나 역시 같은 결과를 얻었다. 조교친구와 상의한 결과 무기염일 가능성이 있으니 태워보라는 것이다. 결정을 스파틀에 올려놓고 태웠다. 백색의 고형물이 그대로 남아 있었다. 무기염이라는 것이 확인되었다. 정제도중에 남아 있는 용해도가 낮은 무기염이 단백질보다 먼저 결정화되어 생긴 것으로 생각되었다. 무기염을 효소결정이라고 맥주파티까지 받은 그때 나의 심정은 쥐구멍이 있으면 들어가고 싶을 정도였다. 교수님에게 효소가 아니라 무기염 결정이라는 보고를 드리고 죄송하다는 말씀을 드렸다. 그러나 교수는 “걱정하지마. 너는 반드시 성공시킬 것이다”라는 말씀으로 위로해 주셨다.

알콜침전법으로 효소의 결정화는 문제점이 있었기 때문에 황산암모늄 침전법으로 결정화하기로 하였다. 효소액에 황산암모늄을 천천히 소량씩 가하는 방법으로 수없이 시도하였으나 무정형으로 침전되었다. 결정의 크기는 서서히 용해도를 낮추어 가므로써 커진다는 것을 학부시절 무기공업시간에 들은 기억이 떠

올랐다. 서서히 황산암모늄 농도를 높이는 방법을 생각하였다.

효소용액이 약간 현탁되었을 때 원심분리하여 투명한 상등액을 비이커에 담고 냉장고 깊숙이 넣어 물이 자연 증발하면서 황산암모늄의 농도가 높아질 것이라는 생각으로 고안한 ‘자연증발법’으로 결정화를 시도하였다. 수개월이 지난 다음 비이커 안에 백색 결정같은 모양으로 침전된 것이 보였다. 다시 망신을 당하지 않기 위해 연구실의 연구원이 전부 집으로 돌아간 다음에 현미경으로 관찰한 결과 참외씨모양을 한 투명한 판상물질이 보였다. 이러한 모양을 한 결정은 처음 보았다. 원심분리한 다음 결정의 효소활성을 측정한 결과 효소임이 확인되었다. 그러나 만일의 경우를 생각하여 재확인하였으나 결과는 같았다. 그 다음날 교수님에게 보고하였다. 모두가 현미경으로 이상한 형태의 결정을 보고 “흥미있는 결정”이라고 하였다. 이 결과로 2차 맥주 축하파티를 열어 주셨다. 되풀이 되는 실패와 노력 끝에 정제를 시작한지 1년반만에 결정화에 성공하고 이 결정은 새로운 결정 효소이기 때문에 Mucor rennin이라고 이름을 붙였다.

이 새로운 효소 결정으로 인하여 많은 연구논문을 쉽게 발표할 수 있었으므로 박사학위를 받을 무렵은 국제학회지 등에 발표한 논문이 다른 사람보다 많았다. 이 효소를 만들고 치즈에 이용하는 방법을 산업화시키고 학문적으로 연구한 결과로 인하여 백여년의 전통을 가지

고 있는 일본농화학회상을 외국사람으로서 처음으로 수상하는 영광을 얻었다. 이것이 동기가 되어 1970년도에 36세의 젊은 시절 서울특별시 문화상을 수상할 수 있었다. 나의 은사 아리마선생은 일본 발효협회상, 일본농화학회 본상을 수상하셨다. 그리고 이 연구결과로 덴마크에서 처음 제정된 생물공학분야의 Novo상을 수상하게 한 연구결과가 되었다. 그리고 아리마교수로부터 “너는 수재”라는 말씀까지 들을 수 있었다.

### ‘하면 된다’ 30년 연구의 결론

이러한 연구로 실수와 실패를 거듭하는 동안 많은 연구경험을 쌓았다. 이것이 귀국하여 대학원생의 연구지도와 유전공학 개발에 도움이 되었다. 그뿐만 아니라 산학협동으로 삼표식품공업(주) 간장생산 수율향상과 제일제당(주)의 조미료 핵산과 항생제 Cepharosporin C의 발효생산, 보령제약(주)의 항암제 Adriamycin, 혈압강하제 Capril, Nitren 등을 개발하여 산업화하는데 자신감을 가지고 성공시키는데 도움이 되었다. 나의 손길을 거쳐서 연구개발하여 산업화된 물질로 인해서 우리나라와 세계의 대부분의 사람이 맛있게 먹거나, 병을 치료하면서 건강을 유지하기도 하고, 3천만 마리 이상의 송아지의 생명을 구할 수 있다는 것을 생각할 때 연구의 보람이 있음을 느낀다.

끝으로 나의 30여년간의 연구개발 경험을 통하여 ‘하면 된다’는 말과 같이 ‘미생물은 창의력을 발휘하여 노력하는 자는 결코 배반하지 않는다’는 신념을 갖게 되었다. ⑤7