

과제계획요청서

PROJECT PROPOSAL REQUEST (PPR)

바이오매스 우회 길을 여는 열쇠 시즌2
(Beyond Biomass season2)

PPR No. ASTRA02_2501PPR1

공모유형: 분야공모

보안과제여부: 일반



과학기술정보통신부



한국연구재단

한계도전전략센터

Advanced Science & Technology Research Agency (ASTRA)

1. 과제 개요

한국연구재단 한계도전전략센터에서는 Carbohydrate를 상온, 상압의 조건에서 제조하는 미생물 개발 중심 R&D 프로젝트(Beyond Biomass¹⁾)를 시작하였습니다. 이어서, 이를 산업적으로 활용 가능한 에너지 및 탄소 원과의 연계를 통해, Biorefinery 업스트림 원료(Sustainable Upstream Feedstocks)를 안정적이고 대량 생산할 수 있는 기술 개발 프로젝트(Beyond Biomass season2)를 추진합니다.

이 프로젝트는 “바이오매스²⁾가 없어도 지속 가능한 Biorefinery 원료를 안정적으로 생산할 수 있을까?” 라는 한계 도전적 문제 인식에서 출발합니다. 이 문제의 해결을 통해 지역적 한계를 극복하고, 필요 현장에서 바로 생산 가능하며, 근본적으로 지구환경 및 농업적 기반이나 경쟁력이 부족한 우리나라도 Biorefinery 업스트림 원료를 안정적으로 확보할 수 있게 된다고 판단합니다.

이 시도가 성공한다면 낮은 성장 속도, 지역적으로 편중된 생산, 식용 작물 사용에 대한 윤리적·사회적 문제, 과도한 경작에 따른 물 및 토지 사용 증가, 화학 비료 사용에 따른 환경오염 등 우리가 지금까지 당연하다고 생각한 바이오매스 출발 기술이 갖는 원천적 문제를 극복하는 계기가 될 것입니다. 그리고, 그 과정에서 얻는 새로운 지식과 경험은 합성생물학, 대사공학, 효소단백질 공학 등의 분야에서 한국의 연구 수준을 글로벌 선단 그룹으로 인식시킬 것입니다.

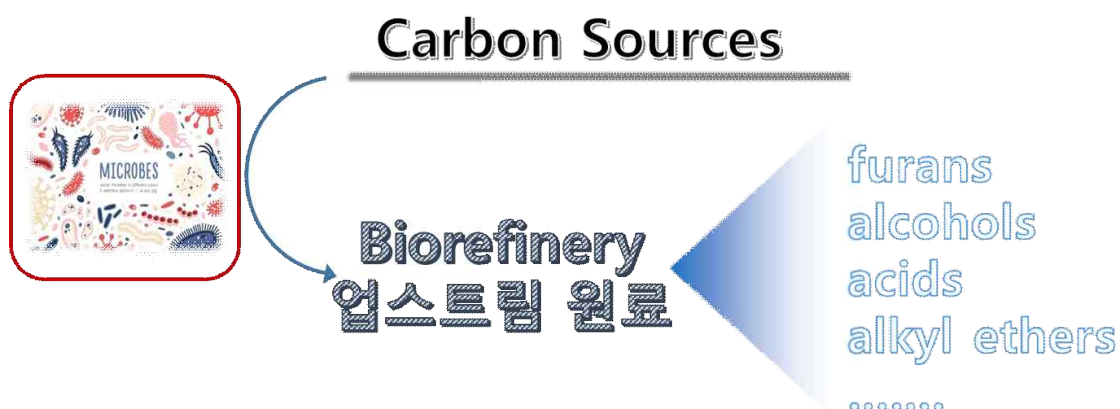


그림 1. 프로젝트(Beyond Biomass season2)에 대한 설명도

1) 한계도전 전략센터 홈페이지(<https://astra.nrf.re.kr/>), 연구주제 “Beyond Biomass - 바이오매스 우회 길을 여는 열식 미생물”에 첨부된 PPR 참조

2) 태양광을 받아서 자라는 육상·해양 식물자원, 생태계 순환과정을 구성하는 생물(Bio)의 총 덩어리(Mass).

2. 추진 배경

(문제 인식의 배경) 석유화학산업은 원유의 에너지 전환 과정에서 파생되는 산업인데, 우리나라는 석유 한 방울 나오지 않는 여건에서도 원유의 수입을 통해 업스트림 원료(경질 올레핀 등)를 대량 안정적으로 생산하여 석유화학산업을 세계 4위 생산 규모의 국가주력산업으로 성장시킬 수 있었습니다. 그런데, 석유화학산업은 더는 부가가치를 창출하기 어려운 기술 개발 상방한계와 자원 생산 지역(중국, 중동, 동남아 등) 중심 화학산업 대비 경쟁력 확보가 어려운 구조적 한계에 이르고 있습니다. 이에, 원유가 없어도 미래 글로벌 화학산업의 경쟁력을 담보할 수 있는 탄소(Carbon) 기반 업스트림 원료 생산 기술 개발 필요성을 인식하게 되었습니다.

우리나라는 바이오 기반 산업 활성화를 목표로 정책적 지원을 계속하고 있고, 지속해서 강화될 글로벌 친환경 정책과 사회적 요구를 국내 화학기업들은 산업 전환의 기회로 판단하고 있습니다. 이러한 동향은 우리나라뿐 아니라 전 세계 각국에서도 쉽게 찾을 수 있습니다. 그러나, 원료 측면에서 바이오매스는 석유 기반 화학 원료 대비 높은 가격을 형성하고 있고, 또한 안정적 수급 측면에서도 한계를 갖고 있어, 화이트 바이오산업 발전의 가장 큰 장애요인입니다.

글루코스, 슈크로스과 같은 Sugar는 식량자원의 주원료일 뿐만 아니라 바이오매스 자원에서 얻어지는 업스트림 핵심 원료입니다. 그러나, 각종 바이오매스는 첨단 종자 개량과 최신 방제 기술의 발전에도 불구하고 전통적 방식에 의해 생산되기 때문에, 기후와 토양/해양 여건에 따른 생산량의 차이³⁾와 생산성 한계가 전 지구의 지역에 따라 뚜렷합니다. 또한, 특정 연도의 이상기후, 글로벌 지정학적 이슈, Pandemic 등에 따른 물류 대란의 발생은 가격 폭등과 수급 변동성을 초래하여 해당 산업 경쟁력에 심각한 위협 요인이 됩니다.(아래 그림2, 3 참조)⁴⁾⁵⁾ 그리고, 낮은 성장 속도, 지역적으로 편중된 생산, 식용 작물을 제품 원료로 사용하는 것에 대한 거부감, 경작에 필요한 과대한 면적, 화학 비료 사용, 수질 오염 등 안정적인 산업 원료 흐름 형

3) 특정국가 (원당-브라질, 호주, 인도, 태국 등, 전분(포도당)-미국(옥수수), 중국(옥수수), 태국 (타피오카) 등)의 공급 독점은 농경지와 기후환경 적합 여건과 이에 따른 생산량의 차이가 가져오는 하나의 예임.

4) <https://www.winton.com/news/the-sweet-and-sour-history-of-sugar-prices>

5) <https://www.farm-equipment.com/articles/5142-historical-corn-prices-provide-look-at-future-equipment-sales>

성 측면에서 원천적 문제가 있다고 판단합니다.

따라서, Sugar가 바이오매스 자원에서 출발하는 이상, ESG 관점의 지속 가능한 친환경 화이트 바이오산업의 성장과 확대는 자연적 한계를 갖고 있으며, 바이오매스가 없어도 Sugar와 같은 Biorefinery 업스트림 원료를 안정적으로 생산하고자 하는 Beyond Biomass season2 프로젝트는 자연의 한계를 극복하는 도전적 연구라고 판단합니다.

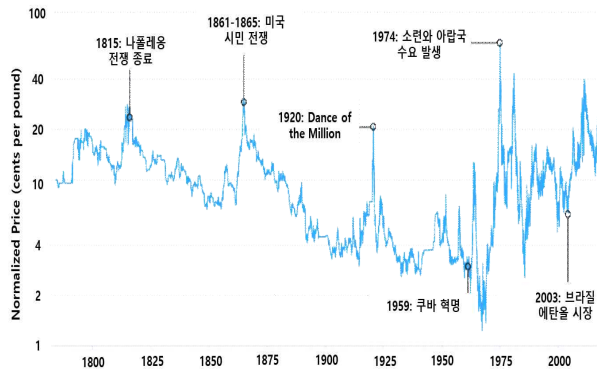


그림 2. 글로벌 이슈에 따른 Sugar 가격 변동성

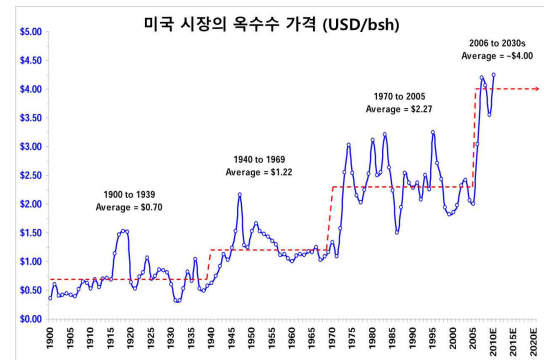


그림 3. 옥수수 가격의 역사적 변화

2-1. 대사 경로의 설계와 최적화

Biorefinery 업스트림 원료를 제조하기 위한 탄소(Carbon) 원(Source) 관점의 이산화탄소는 일 년 동안 350 Gt 이상이 독립영양생물 유기체(Autotrophic Organism)에 고정된다고 알려집니다.⁶⁾ 이 중 95% 이상은 Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase-Oxygenase (RuBisCO), 즉 광합성으로 알려진 Calvin-Benson-Basham (CBB) Cycle의 카르복실화 효소에 의해 바이오매스 자원에 이르는 대사경로가 시작됩니다.⁷⁾ 그리고, CBB 경로 이외에 탄소를 고정하는 또 다른 독립 영양 경로(Wood-Ljungdahl Pathway, Reductive TCA Cycle, 3-HP/4-HB Pathway 등)가 알려져 있습니다.⁸⁾

그런데, 이미 이러한 자연계 이산화탄소 고정화 경로가 있음에도 불구하고, Beyond Biomass season2 프로젝트와 같이 특정 산업적 목표에 맞춘 업스트림 원료를 생산하기 위해서는 이산화탄소 고정률이 향상된 대사경로

6) T. Schwander, L. Schada von Borzyskowski, S. Burgener, N. S. Cortina, T. J. Erb, A synthetic pathway for the fixation of carbon dioxide in vitro. Science 354, 900-904 (2016).

7) T. J. Erb, J. Zarzycki, A short history of RubisCO: The rise and fall of Nature's predominant CO₂ fixing enzyme. Curr. Opin. Biotechnol. 49, 100-107 (2018).

8) S. Santos Correa, J. Schultz, K. J. Lauersen, A. Soares Rosado, Natural carbon fixation and advances in synthetic engineering for redesigning and creating new fixation pathways. J. Adv. Res. 47, 75-92 (2023).

(Metabolic Pathway)가 필요합니다. 그리고, 태양광에 의존한 고정화 경로는 산업 화학 합성에는 한계가 있습니다. 자연계 고정화 경로를 산업 생산에 사용할 수는 없지만, 다양한 탄소 고정 효소와 해당 경로가 갖는 정보는 인공 대사 경로 개발에 중요한 정보를 제공합니다. 따라서 최근에는 이산화탄소 고정화 효율성을 높이고 이 과정에서 이산화탄소의 손실을 줄여주는 인공 대사 경로 개발 개발에 많은 연구 관심이 쏠리고 있습니다.

C-C Coupling을 통해 3개의 One-Carbon 분자(Formaldehyde)를 1개의 Three-Carbon 분자(Dihydroxyacetone, a ketotriose monosaccharide)로 전환하는 비자연계 컴퓨터 설계 효소(Computationally Designed Enzyme, Formolase (FLS)) 경로가 제안되었습니다.⁹⁾ 비록 *in vitro* 실험에 기반한 가능성을 제시한 결과이지만, 자연계 탄소 고정화 메커니즘과는 달리 간섭을 받지 않는 선형 경로이고, 산소 환경에 민감하지 않으면서 열역학적으로 유리한 간단한 몇 개의 단계로 구성되어 있습니다. 그리고, 이미 알려진 효소 반응 경로와 연결하면 Formate로부터 다양한 C-C Coupling 물질을 만드는 플랫폼 기술을 제공한다는 점이 매우 흥미롭습니다. 단위 Formate 소비량을 바이오매스로 환산한 수율 결과와 이에 해당하는 열역학적 Driving Force 결과를 이미 알려진 9개의 자연계 단일 탄소 분자(Formate 또는 이산화탄소) 활용 경로와 비교하였는데,(그림 4) 바이오매스 환산 수율이 rTCA Cycle보다 다소 낮지만, FLS 경로가 rTCA Cycle은 물론 다른 자연계 경로보다 열역학적으로 매우 수월한 경로라고 알려줍니다.

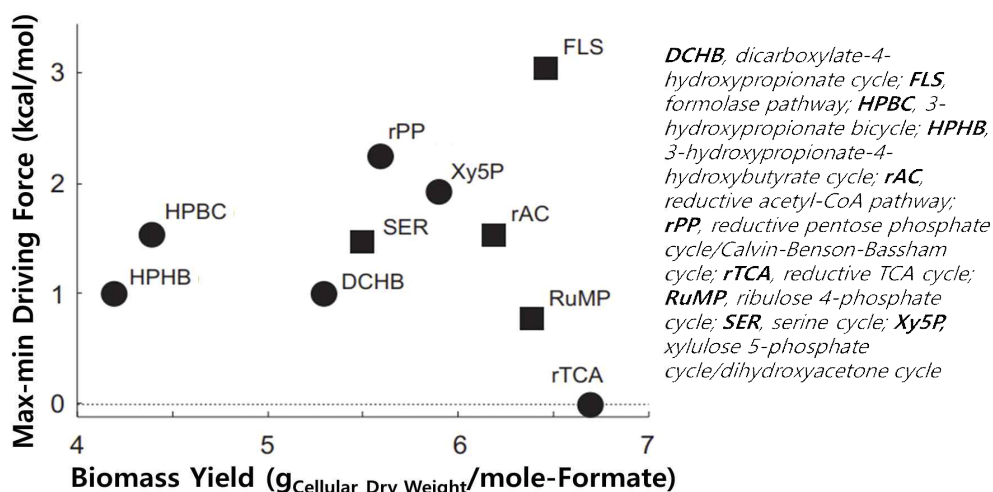


그림 4. 다양한 대사 경로의 열역학적 용이성과 탄소 활용 효율성 데이터 비교.¹⁵⁾

9) David Baker et al, Computational protein design enables a novel one-carbon assimilation pathway. PNAS 112, 3704-3709 (2015).

이산화탄소와 수소로부터 전분(Starch)을 제조하는 Chemical-Biochemical 하브리드 Pathway(ASAP, Artificial Starch Anabolic Pathway)가 제안되었습니다.¹⁰⁾ 11개의 핵심 반응으로 구성된 이 대사경로는 3개의 중요한 병목형 효소들을 단백질 공학을 통해 최적화되었는데, 일부 계산 값을 이용한 Cell-Free System의 결과이기는 하지만, Calvin Cycle 대비 최대 8.5배 수준의 전분 생산 속도($\sim 17.2 \text{ mmol C min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)를 갖는 것으로 알려졌습니다. 그리고, 화학적 방법을 통해 이산화탄소를 환원($\text{CO}_2 + 3\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$)하여 C1 모듈단계의 FLS 반응을 위한 Formaldehyde를 제조하고, 이를 C3, C6, Cn 모듈 단계에서 레고블록처럼 어셈블링하여 전분을 제조합니다.

자연적 이산화탄소 고정 효율을 증가하는 인공 탄소 고정 경로인 CETCH Cycle이 보고되었습니다.¹¹⁾ 이 경로에는 산소성 광합성 생물과 동일한 에너지 운반체인 2개의 CO_2 분자와 2개의 ATP 및 3개의 NAD(P)H 보조 인자를 사용하여 분당 5 nano mole 속도로 CO_2 를 유기 분자로 전환하는 17개의 효소가 포함됩니다. 이들 경로의 합성속도(Synthesis Rate)나 열역학적 Driving Force 등 여러 특성이 CBB cycle보다 우수하다고 알려졌지만, 아직 *in vivo* 결과는 공개되지 않습니다.

이처럼 효율적인 대사회로의 설계뿐만 아니라, 이를 host 균주 지놈에 삽입하여 산업 확장성에 기여 가능한 특정 업스트림 원료를 생산하는 미생물 개발에 큰 기술 장벽이 있습니다. 한계도전전략센터에서는 지난 PPR(No. ASTRA02_2403PPR1¹²⁾) 공고를 통해 “태양광에 의존하지 않는 인공 CO_2 고정화 회로 도입 C-C 커플링 미생물 개발¹³⁾”을 추진하고 있습니다.

아래의 표 1에서는 지금까지 살펴본 6개의 자연계 및 몇몇 합성 경로의 해당 유기체, 에너지원, 투입 및 생성물, 환원제, 주요 효소와 산소 민감도 정보를 비교하고 있습니다.

10) Cai et al, Cell-free chemoenzymatic starch synthesis from carbon dioxide. Science 373, 1523-1527 (2021).

11) Tobias J. Erb et al, A synthetic pathway for the fixation of carbon dioxide in vitro. Science 354, 900-904 (2016).

12) 한계도전 전략센터 홈페이지(<https://astra.nrf.re.kr/>), 연구주제 “Beyond Biomass - 바이오매스 우회 길을 여는 열쇠 미생물”에 첨부된 PPR 참조

13) 한계도전 전략센터 홈페이지(<https://astra.nrf.re.kr/>), 연구주제 “Beyond Biomass - 바이오매스 우회 길을 여는 열쇠 미생물”의 수행연구과제 참조

(표 1.) 자연계 및 합성 이산화탄소 고정화 대사 경로의 비교.

대사 경로	형태	해당 유기체	에너지원	투입물	생성물	주요 효소	산소 민감도	ref.
Calvin-Benson	natural	Plants, Algae, Cyanobacteria	Light	3CO ₂ , 9ATP, 6NAD(P)H	Glyceraldehyde-3 phosphate	RuBisCO	No	14)
rTCA	natural	Green sulfur bacteria, Proteobacteria, Aquificae, Nitrospirae	Light, Sulfur	2CO ₂ , 2ATP, 4NAD(P)H	Pyruvate	2-Oxoglutarate synthase, Isocitrate dehydrogenase	Yes	15)
Wood-Ljungdahl	Natural	Acetogenic, Methanogenic Archaea, Planctomycetes, Sulfate, Archaeoglobales	Hydrogen	2CO ₂ , 1ATP, 4NAD(P)H	Acetyl-CoA	NAD-independent formate dehydrogenase, Acetyl-CoA synthase-CO dehydrogenase	Yes	16)
3-HP	Natural	Chloroflexaceae	Light	3HCO ₃ ⁻ , 5ATP, 5NAD(P)H	Pyruvate	Acetyl-CoA carboxylase, Propionyl-CoA carboxylase	No	17)
HP/HB	Natural	Aerobic Sulfolobales	Hydrogen, Sulfur	2HCO ₃ ⁻ , 4ATP, 4NAD(P)H	Acetyl-CoA	Acetyl-CoA-Propionyl-CoA carboxylase	No	18)
DC/HB	Natural	Anaerobic Thermoproteale, Desulfurococcales	Hydrogen, Sulfur	1CO ₂ , 1HCO ₃ ⁻ , 3ATP, 4NAD(P)H	Acetyl-CoA	Pyruvate synthase, PEP carboxylase	Yes	19)
Natural Reductive Glycine	Candidate Natural	Candidatus phosphitivorax anaerolimiDesulfovibrio desulfuricans	Phosphite	CO ₂ , ATP, NAD(P)H	Formate/Pyruvate	CO ₂ -reducing formate dehydrogenase	-	20)
CETCH	Synthetic	Theoretical	-	2CO ₂ , 2ATP, 3NAD(P)H	Glyoxylate	CoA-dependent carboxylase	No	21)

대사 경로	형태	해당 유기체	에너지원	투입물	생성물	주요 효소	산소 민감도	ref.
SACA	Synthetic	Demonstrated in E.coli as host	–	CO ₂	Acetyl-CoA	NAD-independent formate dehydrogenase	No	22)
Formolas	Synthetic	Theoretical	–	CO ₂ , NADH, ATP	Dihydroxyacetone-phosphate	NAD-independent formate dehydrogenase	No	23)

-
- 14) Berg IA et al. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO₂ fixation pathways. Appl and Envir Micro 77, 1925-1936 (2011).
- 15) Evans MC et al, A new ferredoxin-dependent carbon reduction cycle in a photosynthetic bacterium. Proce. of the Nat Aca of Scien of the Unit Sta of Amer 55, 928 (1996).
- 16) Ljungdhal LG et al, The autotrophic pathway of acetate synthesis in acetogenic bacteria. Ann Rev of Microb 40, 415-450 (1986).
- 17) Holo H. Chloroflexus aurantiacus secretes 3-hydroxypropionate, a possible intermediate in the assimilation of CO₂ and acetate. Arch of Micro 151, 252-256 (1989).
- 18) Berg IA et al, A 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate autotrophic carbon dioxide assimilation pathway in Archaea. Scien 318, 1782-1786 (2007).
- 19) Huber H et al, A dicarboxylate/4-hydroxybutyrate autotrophic carbon assimilation cycle in the hyperthermophilic Archaeum Ignicoccus hospitalis. Proc of the Nat Acad of Scien 105, 7851-7856 (2008).
- 20) Figueroa IA et al, Metagenomics-guided analysis of microbial chemolithoautotrophic phosphite oxidation yields evidence of a seventh natural CO₂ fixation pathway. Proc of the Nat Acad of Scien 115, 92-101 (2018).
- 21) Tobias J. Erb et al, A synthetic pathway for the fixation of carbon dioxide in vitro. Science 354, 900-904 (2016).
- 22) Lu X, et al, Constructing a synthetic pathway for acetyl-coenzyme A from one-carbon through enzyme design. Natu Comm 10, 1-10 (2019).
- 23) David Baker et al, Computational protein design enables a novel one-carbon assimilation pathway. PNAS 112, 3704-3709 (2015).

2-2. 미생물에 제공되는 이산화탄소와 화학 에너지

지금까지 살펴본 대사회로의 설계 및 이를 보유한 미생물의 개발뿐만 아니라, “이산화탄소와 대사 과정에 필요한 생화학적 에너지를 어떻게 마련하여 공급할 것인가?”의 문제도 Beyond Biomass season2 프로젝트 목표 달성을 위해 극복해야 할 중요한 기술 이슈입니다. 왜냐하면, 미생물에 제공될 이산화탄소는 화석연료의 에너지 전환 과정에서 발생한 후 회석된 상태로 존재하며,²⁴⁾ 특정 Carbohydrate를 생산하는 미생물 대사 회로에는 환원력과 ATP(Adenosin Triphosphate)와 같은 생화학적 에너지가 필요하기 때문입니다. 탄소원에 포함된 이산화탄소의 농도가 낮을수록, 분리 및 화학적 환원에 필요한 에너지량은 급격히 증가합니다. 그리고, 용액 중 미생물에 이산화탄소를 제공하는 과정에서도 이산화탄소의 물에 대한 상대적으로 낮은 용해도, 기체-액체 경계면에서의 저항, 미생물과 이산화탄소의 낮은 접촉 면적, 이산화탄소의 탈기 현상, 미생물 세포 표면에서 급격히 낮아지는 농도 구배 등의 이유로 물질전달 특성이 효율적이지 못합니다.

대사 과정에 사용할 수 있는 환원력과 ATP를 위한 화학 에너지의 공급도 제한적입니다. 탄소를 고정하고 외부에서 에너지를 사용하여 관심 있는 제품을 만드는 연구 사례는 일부 있었지만,²⁵⁾²⁶⁾ 아직 화이트 바이오산업의 업스트림 원료를 대규모로 생산하는 미생물 플랫폼으로 설계된 사례는 아직 없었습니다. 한편, 수소와 전기 중 환원 등가물로서 어떤 것이 효율적인지에 대한 논의가 많이 있는데, 이는 신재생 전기 에너지 사용의 효율성과 관련이 있습니다. 가장 발전된 그린 수소 생산 수전해 기술의 경우, 이론적으로 계산된 전기 에너지량(33.6 kWh/kg H_2) 보다 최소 48% 이상의 에너지가 더 필요(> 50 kWh/kg H_2)한 것으로 알려집니다. 그리고, 매우 낮은 수소의 용해도($0.0016 \text{ g/L @ } 25^\circ\text{C}$)와 폭발 위험성도 해결해야 할 어려운 문제로 알려집니다.

탄소원에서 분리된 이산화탄소를 전기화학 방법으로 Formate를 만들어 사용하면으로써, 대사 회로 속도와 환원력 제공 효율성 문제를 극복하려는 시도가 많이 보고됩니다. 그러나, 공기로부터 이산화탄소의 분리(> 20 kJ/mol) 및

24) 활용 가능한 탄소원과 이산화탄소의 농도, 화력발전소 배출가스(석탄:12~15%, 천연가스:3~4%), 대기(약 400~420 ppm), 해양(약 1~3 mg/L) 등

25) Liu et al, Water splitting biosynthetic system with CO_2 reduction efficiencies exceeding photosynthesis. Science 352, 1210 (2016).

26) Guo et al, Light-driven fine chemical production in yeast biohybrids. Science 362, 813 (2018).

Formate 제조 과정($\text{CO}_2 + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{HCOO}^-$ $\Delta G = 81 \text{ kJ/mol}$)²⁷⁾에서 역시 많은 에너지가 필요하고, 높은 선택성도 담보되지 않고 있습니다. 그리고, 미생물의 Formate 산화 과정에서 이산화탄소가 다시 배출되어, 실질 CO_2 Fixing Flux 감소와 에너지 사용 효율성 문제가 다시 발생합니다.

태양 에너지를 저장하면서 동시에 이산화탄소를 고정화하는 연구 사례로부터 광합성 기반 바이오 원료 생산 기술이 갖는 한계(낮은 탄소 전환 효율, 일정하지 않은 생산)를 해결할 수 있는 정보를 얻을 수 있습니다. 미국 ARPA-E 프로그램(ElectroFuel)의 예(이산화탄소를 이용한 Solar Energy to BioFuel 전환 연구)를 살펴보면, 태양광의 직접 전환 최대 효율은 5% 수준이지만 태양 전지의 에너지 전환 효율은 20% 수준이라는 점에 착안하였습니다. Solar Cell을 사용하여 얻은 수소나 전기(e^-)를 미생물에 필요한 에너지로 사용함으로써, 태양 에너지를 효율적으로 액체 연료화 하려는 노력이 있었습니다.²⁸⁾ 그러나, 각종 에너지 손실과 물질전달 저항 문제는 해결하지 못하고 있습니다.

아래의 표 2와 같이 생물학적 보조인자에 전자를 제공할 수 있는 많은 후보 물질이 있지만, 옵션마다 해결해야 할 어려운 문제(낮은 용해도, 안전, 독성, 높은 환원 포텐셜 등)를 갖고 있습니다. 그리고, 이러한 화학 물질의 선택은 이산화탄소 공급 방법과도 밀접한 관계가 있습니다. 따라서, 바이오·전기화학 시스템은 에너지 효율성 관점에서 연구 계획이 수립되어야 합니다.

(표 2.) 각종 전자 공여체의 종류와 특성²⁹⁾

e^- 공여체	산화/환원 전위(mV)	용해도	미생물 독성
H_2	-410	낮음	낮음
CO	-520	낮음	높음
HCOO^-	-420	높음	높음
NH_3	+350	높음	높음(NO_2^-)
Fe^{2+}	+770(pH 2), -240(pH 7)	낮음	중간
S^{2-}	-270	낮음	높음
HPO_3^{2-}	-650	높음	낮음
Cathodic electrons	-	-	낮음

27) 실제 공정에서는 과전압, 시스템 저항, 물질 전달 저항으로 인해 이론값의 2~3배의 에너지가 필요하다고 알려짐.

28) <https://arpa-e.energy.gov/technologies/programs/electrofuels>

29) <https://arpa-e-foa.energy.gov/Default.aspx?Search=ECOSynBio&SearchType=>

2-3. 자가영양 미생물의 이산화탄소 고정화 메카니즘

자가영양 미생물의 이산화탄소 고정화 메커니즘은 특정 화학 원료를 생산하는 미생물 엔지니어링 연구에 있어 중요한 정보를 제공합니다. 특히, 자가영양 미생물 중에서도 암모니아(ammonia)와 인화물(phosphite) 같은 화학 에너지를 사용하는 화학독립영양균(chemolithotroph)³⁰⁾³¹⁾은 효율적인 ATP와 환원력 생성을 통해 이산화탄소를 고정합니다. 구체적으로는 암모니아 산화 고세균의 수정된 HP/HB 회로는 기존의 캘빈 회로보다 낮은 ATP 소비를 특징으로 하며, 산소 허용 효소를 활용하여 효율성을 극대화합니다. 인화물 산화 미생물은 혐기성 환경에서 인화물을 산화하여 NADH를 생성하며, 이를 통해 Wood-Ljungdahl 경로로 이산화탄소를 효율적으로 고정합니다. 전자 흐름과 대사 회로를 정교하게 연결함으로써, 이산화탄소를 직접 활용해 특정 화학 원료를 제조하는 플랫폼을 개발할 수 있습니다.

이처럼 화학독립영양균을 이용한 대사 공학 연구는 높은 잠재력을 가지고 있지만, 화학 에너지를 사용하는 과정의 생화학적 에너지 생성 효율이 아직도 낮아 대량 생산에 제약이 있으며, 특히 일반적으로 성장 속도가 느려서 산업 생산 규모로 확대하는 데 한계를 갖습니다. 광범위하게 연구된 모델 생물(예: 대장균)과 달리 유전자 편집 도구가 부족하여 유전적 개조가 어렵고, 극한 환경의 특정 조건에서만 생존 가능한 종이 많아 대량 배양이 어렵다고 알려집니다.

2-4. 바이오·전기화학 시스템과 생화학적 에너지

이산화탄소를 전기화학 반응을 통해 높은 에너지 준위의 미생물에 공급 가능한 원료 물질로 환원시킨 후, 고급 알코올을 제조하는 연구 결과를 독일 에보닉과 지멘스가 발표했습니다.³²⁾ 종전 CO₂-to-CO Electrolyser의 불안정성과 충분하지 못한 Electric Current Density 문제가 극복된 결과(>300 mA/cm², >1,200시간 운전)인데, 해당 CO₂-to-CO 반응기를 Butanol과 Hexanol 선택도를 갖는 발효조와 물리적으로 연결한 연구 사례입니다. 회석된 탄소원을 전기화학 반응에 직접 활용하기 위해서는 공간 속도 및 각종

30) Martin Könneke et al, Ammonia-oxidizing archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO₂ fixation. PNAS 111, 8239 (2014).

31) Zhuqing Mao et al, Anaerobic dissimilatory phosphite oxidation, an extremely efficient concept of microbial electron economy. Environ. Microbiol. 25, 2068-2074 (2023).

32) Thomas Haas et al, Technical photosynthesis involving CO₂ electrolysis and fermentation. Nature Catalysis 1, 32 (2018).

불순물 문제로 인해 스케일업 한계가 존재합니다. 따라서, 해당 연구는 100% 수준으로 농축된 이산화탄소를 사용한 결과이며, 공기에 포함된 이산화탄소(400~420ppm)를 활용하기 위해서는 포집(최소 20 kJ/mol 이상) 및 운송에 필요한 에너지 비용을 추가로 고려해야 합니다.

이산화탄소와 물, 그리고, 신재생 전기를 이용하여 미생물 (*Ralstonia eutropha*)을 포함하는 하나의 반응기에서 C3~C5 알코올과 PHB (Polyhydroxybutyrate)를 제조하는 연구 결과가 발표되었습니다.³³⁾³⁴⁾ 물의 전기분해를 거쳐 얻어진 수소 분자를 에너지 전달체로 사용하여, 이산화탄소가 미생물 Calvin Cycle을 통해 고정화됩니다. 실험실 수준의 결과이지만 400ppm 농도의 대기 중 이산화탄소를 사용한 것이 특징적이고, 매우 낮은 Electrolysis Current Density(~1 mA/cm²) 한계 극복을 통해 100배 이상 생산 속도를 확보해야 상업적 적용을 검토할 수 있을 것으로 예상합니다.

이처럼 이산화탄소에 우선 에너지를 인가하여 활성화된 물질로 전환한 후, 이를 미생물에 전달하는 협력형 시스템과 미생물에 이산화탄소와 에너지를 직접 전달하는 통합형 시스템은 각각 독특한 장점과 한계를 가집니다. 협력형 시스템에 있어서 전기화학적으로 CO₂를 환원하면 주로 포름산, 메탄올, 일산화탄소(CO), 에탄올 등의 한정된 중간체를 생성할 수 있고, 이 물질들을 미생물이 탄수화물로 전환하려면 추가적인 대사 경로와 에너지가 필요하므로 전체 시스템 효율이 낮아질 수 있습니다. 혹은, 추가 에너지가 필요 없는 낮은 에너지 준위의 다운스트림 원료 제조 기술 범위를 벗어나기 어려울 수 있습니다. 미생물이 다양한 전기화학적 환원 산물을 모두 이용할 수 있는 것은 아니며, CO₂를 환원하기 위한 높은 에너지 비용뿐만 아니라 비 선택적 생산 문제도 큰 기술 이슈입니다.

CO₂와 에너지(전기화학 반응을 통해 제공되는 에너지)를 미생물에 직접 전달하는 통합형 방식은 시스템을 단순화하고 중간체 독성 문제를 피하면서 CO₂ 전환 효율을 높일 수 있을 뿐만 아니라, 다운스트림 확장성을 담보할 수 있는 업스트림 Carbohydrate 생산에 유리합니다. 하지만 이 방식은 미생물과 전기화학 시스템의 상호작용 최적화, 전극 설계, 미생물의 성장과 대사회로의 효율성을 유지하면서 CO₂와 에너지를 미생물에 전달해야 하는 어

33) J. P. Torella et al, Efficient solar-to-fuels production from a hybrid microbial-water-splitting catalyst system. PNAS 112, 2337-2342 (2015).

34) Chong Liu et al, Water splitting-biosynthetic system with CO₂ reduction efficiencies exceeding photosynthesis. Science 352, 1210-1213 (2016).

려운 기술 장벽 극복이 필요합니다.

특히, 열역학적으로 유리한 인공 대사 회로의 개발과 in vivo 기술로의 구현에 성공하고, 표 2와 같은 다양한 화학 에너지의 제공이 가능한 플랫폼 기술 혁신이 있더라도, 이를 대사 회로에 효율적으로 전달할 수 있는 “화학 에너지 기반 생화학적 에너지(환원력, ATP)로의 전환” 기술이 부재하면 산업적 파급효과도 기대하기 어렵습니다. 대사 회로에 필요한 생화학적 에너지 전달은 미생물의 특정 화학 원료 생산성을 좌우하기 때문입니다.

3. 과제 목표 및 범위

(최종 목표 및 연구내용)

바이오매스가 갖는 태양광 의존성, RuBisCO 효소의 낮은 효율, 그리고 산소와의 경쟁적 반응에 따른 낮은 이산화탄소 고정화 속도는 기술적으로 해결할 수 없는 자연적 한계에 해당합니다. 따라서, 바이오매스 기반 화학 원료 제조 기술이 지속 가능한 석유화학 대체 산업으로 발전하는 것은 매우 어렵다고 판단합니다.

이에 본 프로젝트는 에너지 사용 효율성과 이산화탄소 고정화 속도가 종전 자연계 바이오매스 대비 우수하면서, 안정적인 생산도 가능한 「바이오매스 우회 업스트림 원료 생산 기술 개발」에 도전합니다.

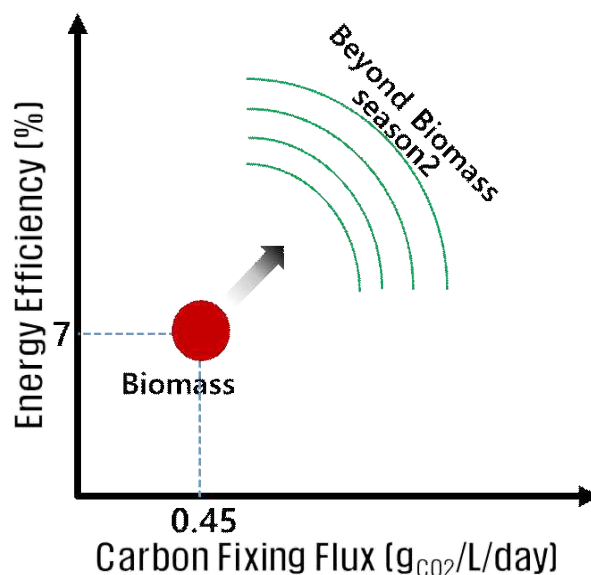


그림 5. 프로젝트의 연구목표 방향

연구제안 책임자는 미생물학, (전기)화학, 화학공학, 컴퓨터 과학 등 다학제 협력 연구의 필요성을 인식하고, 글로벌 선단에 있는 연구 수준을 뛰어넘을 수 있는 각 연구 분야의 새로운 연구 전략을 제시해야 합니다.

Beyond Biomass season2 프로젝트는 아래와 같이 2개 기술 트랙에서 연구 과제 선정 후, 상세계획을 거쳐 프로젝트 목표(그림 5)³⁵⁾ 달성을 위한 협력 연구체계를 구축할 계획입니다.

35) 각종 제한 환경과 저항 변수에 따라 실제 값은 훨씬 낮은 것으로 알려짐.

표3. 프로젝트의 목표 및 연구 분야

	기술 트랙 1 [CO ₂ 와 화학 에너지 공급 시스템]	기술 트랙 2 [미생물 엔지니어링]
목적	미생물에 이산화탄소와 화학 에너지 ³⁶⁾ 를 효율적으로 제공하는 시스템 개발	제공된 CO ₂ 와 화학 에너지를 사용하여 C-C 결합 보유 Carbohydrate를 생산하는 미생물 개발
연구 분야 ³⁷⁾	<ul style="list-style-type: none"> - 미생물을 이용한 이산화탄소 고정화 반응기 - 이외, 기술 트랙 목표 달성에 기여 가능한 기타 연구 분야³⁸⁾ 등 	<ul style="list-style-type: none"> - 화학 에너지에서 생화학적 에너지 (환원력, ATP)로의 전환과 활용 - Chemolithotroph의 성장 - 미생물 대사회로 설계 또는 최적화

연구개발 계획서 작성을 위해 반영해야 할 중요한 내용은 아래와 같습니다.

- 1) 연구개발 계획서에는 선택한 연구 분야에서 해결해야 할 기술 이슈와 이를 극복하는 연구내용이 포함되고, 과제 제안자가 제시한 이슈는 프로젝트 목표(그림 5) 달성에 이바지하는 내용이어야 합니다.
- 2) 기술 이슈의 원천성, 이와 프로젝트 목표와의 연관성, 그리고 기술 이슈의 해결이 가능하다는 연구 제안자의 주장은 해당 분야 전문가들이 인정할 수 있어야 합니다.
- 3) 연구 제안자가 제시한 기술 이슈를 어떻게 해결할 수 있는지 설명하면서, 해당 연구수행 결과물을 1단계 분기별 마일스톤 이정표로 제공해야 하고, 연구개발 계획서 연구목표 달성을 통해 연구 제안자가 제시한 기술 이슈는 해결되어야 합니다.
- 4) 과제 제안자는 기술 트랙과 연구 분야를 선택하면서 연구목표 달성 방법론에 기반한 연구계획서를 제출합니다. 방법론에서 출발하는 연구 계획은 연구 결과의 파급효과를 확대할 뿐만 아니라, 프로젝트 목표 달성을 위한 연구 분야 간 협력 연구 추진 체계 구성에 유리한 여건을 제공합니다.

36) 미생물이 환원력 및 ATP 생산을 위해 필요로 하는 화학 에너지(수소, ammonia, phosphite 등)

37) 연구 분야의 자세한 이해는 본 PPR “2. 추진 배경”의 관련 내용 참조.

38) 기술 트랙 목표 달성을 위해 제안하는 연구내용이 연구 분야(1~4)에 해당하지 않는 경우, 연구제안 책임자가 별도로 지정하여 작성

- 5) 책임PM은 Beyond Biomass season2 프로젝트의 목표 달성을 위해, 가(假) 선정된 연구과제들을 독립적으로 진행할지 혹은 통합 연계하여 진행할지 협약 전 상세계획 수립 과정에서 조정할 수 있습니다. 통합 연계하여 진행하는 경우, 연구주제의 목표(그림 5 참조) 달성을 위해 각 연구계획서의 목표와 내용을 조정하는 등 협력 연구체계를 더욱 구체화할 계획입니다.
- 6) 기술 트랙 1에서는 연구목표 달성을 위한 이산화탄소 공급원³⁹⁾을 선택하고, 이로부터 제공되는 이산화탄소와 화학 에너지를 미생물에 공급하는 방법이 적용된 시스템을 개발합니다. 대표 미생물⁴⁰⁾을 활용한 연구를 통해, 개발하려는 시스템의 확장성과 수월성을 보여야 합니다.
- 7) 연구 분야 간 협력 연구팀이 있는 경우, 협력 연구목표와 연구내용이 포함된 연구계획서를 각각 독립된 연구과제로 제출할 수 있습니다.⁴¹⁾

(연구 결과 산출물 및 성능 지표)

종료 단계에서 연구 결과의 우수성과 연구목표 달성도 검토를 위해 필요한 연구 결과물 산출 계획을 제시해야 합니다. 그리고, 주요 특성 지표 이외에 각 연구 단계의 우수성을 나타내는 별도의 성과물 계획도 자유롭게 제시할 수 있습니다.

(제외 대상)

본 프로젝트에서는 아래에 해당하는 기술 개발을 지원 대상으로 고려하지 않습니다.

- 연구목표(최종 및 단계 목표)와 각종 성능 지표가 정량적으로 제시되지 않는 연구
- 유사 연구의 중복, 후속 또는 이것을 확장하는 연구(독립된 지식 재산권 창출이 가능하지 않은 연구)
- 선행된 연구를 반복하거나 범위를 확장하는 연구
- 점진적 성능 향상 또는 개선을 시도하는 연구 등

39) 공기, 각종 발전소 배출가스, 바다, 포집된 이산화탄소 등 연구의 시작 단계에 활용되는 이산화탄소 포함 조성물 결정을 위한 CO₂ 공급원

40) 에너지 효율적인 이산화탄소 고정화 연구를 위해, 화학 에너지의 종류에 따라 연구제안 책임자가 선택한 미생물

41) IRIS 연구계획서 접수 시, 해당 내용을 이메일(ASTRA_02A@nrf.re.kr) 통해 전달 함

4. 추진 일정

(프로그램 구조, 과제 구성)

한계도전전략센터는 다음과 같은 Beyond Biomass season2 프로젝트 수행을 계획하고 있습니다.

- 선정 예상 과제 수: 기술 트랙 별 1개 내외
- 과제별 예산 규모: 연간 5억 원 내외
- 연구 기간: 최대 46개월 이내
- 연구 진행 단계: 4단계 (각 단계:12개월 이내)
- 추가 예산 소요 예상 시, 연구계획서 내 사유와 내용을 별도 표시

과제 제안자는 센터가 계획하는 자원과 기간의 범위 내에서 상기 목표의 달성을 위한 독창적인 아이디어와 새로운 접근 방식, 연구내용을 자유롭게 제시합니다.

본 과제는 단계별 평가를 통해, 다음 단계 연구수행에 대한 진행 여부(Go/No-Go)가 결정될 것이며, 연구비는 책임PM의 연구수행 내용 검토를 통해 가감 가능할 것입니다.

(기술 로드맵, 점검 평가 일정)

연구 제안자는 수행 기간 전체에 걸쳐 연구개발 로드맵과 분기별 마일스톤 목표를 구체적으로 명시해야 합니다. 연구개발 로드맵에는 과제 수행 중간 단계에서 적용할 수 있는 성과 지표와 이를 인용한 세부 작업 내용이 포함되어야 합니다. 제안자는 전체 프로그램 일정을 준수하고 모든 프로그램 목표, 지표, 중간 단계 및 최종 성과물을 문제 해결 관점에서 제시해야 합니다.

한계도전 사업에서는 목표 달성을 위해 책임PM이 수시로 연구 수행자와 소통하며 매 분기 현장 방문과 전문가 패널 리뷰 미팅을 통해 연구 과정의 지식화와 진화적 Risk 관리를 계획하고 있습니다. 단계 점검을 통해 연구자가 설정한 마일스톤 목표가 달성되었는지 확인함으로써 다음 단계 연구과제의 진행 여부를 결정할 수 있습니다. 프로젝트의 파급효과를 최대화하기 위해 도전적인 연구를 시도하는 과제를 선정하여 책임PM 중심의 협력·융합 연구를 추진합니다.

5. 제공 성과물

연구 책임자는 최소한 다음과 같은 연구 결과물을 제공해야 하며, 책임PM의 요청에 따라 추가 자료, 데이터를 제공해야 합니다.

- 분기별 책임PM과의 회의(현장 방문, 전문가 리뷰)에서 연구수행의 진척 상황을 파악할 수 있는 실험 데이터 및 결과 요약 자료
- 단계 점검일 2주 전까지 제출되어야 하는 단계 보고서
- 성과의 수준을 판단할 수 있는 연구 결과 산출물
- 연구수행 과정에서의 의미 있는 성과물 혹은 시행착오 대처 방안 등을 포함한 연구자의 목표 달성을 위한 노력을 입증하는 자료 등

6. 기타

(협업 관련)

본 프로젝트에서는 연구과제 심사를 통해 상이한 접근 방법으로 제안된 다수의 과제를 선정할 수 있습니다. 책임PM과 한계도전전략센터는 프로젝트의 총괄 목표 달성을 위해 각 과제의 범위, 목표 등을 조정할 수 있으며, 지식재산권 혹은 이해 상충의 문제가 없는 조건에서 투명성이 보장된 협업을 추진할 수 있습니다. 각자의 접근 방식이 다를지라도 본 프로젝트의 모든 연구 수행자가 전문성에 기반한 상호 협력과 소통을 통해 목표 달성을 위해 협업이 이루어지도록 운영할 것입니다.