

植物遺傳工學 技法을 利用한 人工藥草의 生産

洪 周 奉

〈韓國科學技術研究院 遺傳工學센터 · 理博〉

1. 서

1984년 Horsch 등은 토양 미생물인 *Agrobacterium tumefaciens*가 고등식물체를 감염하는 과정 중에 *A. tumefaciens*의 DNA의 일부가 고등식물체 염색체 내로 이전됨을 확인하였다. 아마도 이 연구 결과를 식물 유전공학의 시초라고 표현할 수 있을 것이다.

식물 유전공학은 미생물체를 대상으로 하여 발전하여 온 유전공학 분야로부터 많은 기초 이론과 기술을 흡수하였으며 그 시작은 비록 유전자 재조합 기술이 낳은 하나의 현상처럼 이루어졌으나 짧은 기간 동안에 유전공학 분야의 중요한 일원으로서의 자리를 잡아 가고 있다. 그리고 식물 유전공학 분야의 발전은 식물학 전반에의 발전에 지대한 공헌을 할 것이며 더불어 인류의 생산력 향상에 괄목할 공헌을 할 것으로 판단된다. 가까운 장래에 가시화되는 식물 유전공학이 낳을 산물들에는 농작물 품종 개량 분야의 내약제성 작물, 내충성 작물, 내병성 작물들과 식품공학 분야에서 관심을 가질 섬유소의 함량이 변화된 작물, 당분의 함량 정도가 바뀐 작물들과 원예 분야에서 관심을 가질 각종 색이나 발달 과정이 변이된 화훼류, 그리고 의약체에서 관심을 가질 단백질성 의료활성물질을 생산하는 작물들을 들 수 있다. 아울러 비록 현대에서는 기초 연구 수준에 있으나 실현 가

능성이 예측되는 내염성 작물, 내한성 작물, 내서성 작물, 질소 고정능을 가진 작물, 탄소동화작용의 효율이 향상된 작물, 단백질의 질이 동물성과 동일하게 고급화된 작물, 석유를 원료로 하여 생산되는 폴리머를 대체할 수 있는 강한 섬유소를 생산하는 작물들도 주목해야 될 대상들이다.

2. 식물 유전공학 기법

식물 유전공학은 물론 유전공학이 유용(有用) 유전자의 크로닝과 유전자의 재조합 그리고 유전자의 생물체 내로의 도입과 발현에 의한 유용 단백질의 생물체를 통한 생산 내지는 유용 생물체의 창출을 목적으로 함과 동일한 목적을 가진다.

1) 유용 유전자의 크로닝

생물체는 주요 성분으로서 탄수화물과 지방 및 단백질을 가진다. 이 중 단백질은 생물체의 골격을 이루는데 사용되기도 하나 더욱 중요하게 생물체의 생리 현상과 발달 과정을 이끌어가는 각종 기작을 조절하는 기능을 가지고 있다. 생물체의 주요 성분인 탄수화물과 지방의 합성도 단백질의 작용에 의해 이루어진다. 단백질은 아미노산을 기본 구조 단위로 가지고 있으며(아미노산의 합성도 단백질에 의해 이끌어진다), 단백질의 구조단위인 아미노산의 배열은 유전자인

DNA에 의해 이미 결정되어 있다(DNA의 합성도 단백질에 의해 이끌어진다). 따라서 단백질은 아미노산의 배열을 암호화하고 있는 DNA 내의 정보가 생물체 내에서 읽혀져 아미노산이 정해진 순서대로 배열됨으로써 합성되는 것이다. 유전공학의 기초 분야인 분자 생물학은 일정 단백질의 유전자를 찾아낼 수 있는 기술을 제공하였으며 또한 찾아낸 유전자의 다량 복제를 가능하게 하였고 일정 유전자의 다량 복제를 유전자의 크로닝이라 한다.

2) 유전자의 재조합

다량 복제된 유전자는 종종 단백질의 다량 생산 또는 유용한 새로운 생물체의 제조에 사용되며 이러한 목적을 위해 확보된 유전자를 일부 변형시킬 필요성이 발생한다. 단백질 중에는 DNA를 특정 부위에서만 자를 수 있는 능력을 가진 것들이 있으며 또는 DNA를 결합시킬 수 있는 능력을 갖춘 것이 있다. 이러한 단백질들을 이용하여 유전자의 변형을 이루는 과정을 유전자의 재조합(recombinant DNA technology)이라 한다.

3) 유전자의 생물체 내로의 도입과 발현

목적된 바대로 재조합된 유전자는 대부분의 경우 다시 생물체 내로 도입되는데 그 이유는 생물체 내로의 도입에 의해 유용 단백질의 생산이 용이하게 이루어질 수 있으며 또한 유용한 새로운 생물체가 개발될 수 있기 때문이다. 일단 생물체로 도입된 유전자는 기록되어 있는 정보가 읽혀져 단백질이 생물체 내에서 생산되며 이 과정을 유전자의 발현이라 한다.

3. 의료활성단백질 유전자의 고등 식물체로 도입 및 발현 과정

유전자의 고등식물체 내로의 도입 기법에는 토양 미생물인 *Agrobacterium tumefaciens* (근두암 종양균)를 사용하는 방법, microprojectile (미세 사출법), microinjection (미세 주사법), electroporation (미세 투과법) 등이 있으나 현

단계에서는 주로 근두암 종양균을 이용하는 방법이 사용되고 있다.

고등식물체로의 의료활성단백질 유전자의 도입 및 발현 기법을 정리하면 다음과 같다.

① 의료활성 단백질 유전자의 단백질 암호 부위만을 「고등식물 형질전환용 유전자 운반체」의 「promoter」와 「terminator」 사이에 삽입.

• 고등식물 형질전환용 유전자 운반체 : 유용 단백질의 유전자를 삽입한 후 다량 증식이 가능하며, 고등식물체 내로 도입시 도입된 유전자가 읽혀져 유용 단백질이 식물체 내에서 생성되게끔 하는 DNA.

• 프로모터(promoter) : 유전자가 읽혀져 단백질이 만들어질 수 있게끔 하는 DNA 조각으로 유전자 앞에 위치함.

• 터미네이터(terminator) : 프로모터의 작용을 도와주는 DNA 조각으로서 유전자 뒤에 위치함.

② 상기의 재조합된 DNA를 대장균(*Escherichia coli*) 내에서 일차적인 증식에 의한 다량 확보.

③ 확보된 재조합 DNA를 근두암 종양균 내로 이전.

④ 재조합된 DNA를 가지고 있는 근두암 종양균의 분리 및 증식.

⑤ 상기의 박테리아를 고등식물의 조직 절편(예 : 담배의 잎 절편)과 함께 배양.

⑥ 배양이 완료된 후 박테리아는 항생제를 처리하여 제거.

⑦ 상기의 고등식물의 조직절편을 기내(器內) 식물 재분화 배지에서 배양함으로써 분화된 식물의 생성 유도.

⑧ 기내에서 분화된 식물체를 토양으로 이식.

⑨ 성숙한 식물체의 DNA와 RNA의 분석 및 단백질 분석을 통한 원하는 유전자의 식물체로의 이전 여부 확인 및 의료활성 단백질의 생성 여부 확인.

4. 식물 유전공학 기법에 의해 고등식물체를 통한 생산이 가능한 의료활성 물질

현재 보고된 경우는 제 5항에 소개할 네 경우가 있으나 단백질성 의료활성 물질은 모두 가능한 대상이 될 수 있을 것이다. 약 250종에 달하는 단백질성 의료활성 물질이 현재 임상에 쓰이고 있으며 앞으로 신약이 개발됨에 따라 대상 단백질 수는 증가할 것이다. 특히 식물체를 이용한 처방의 경우 의료활성 단백질의 규명이 제대로 되어 있지 않은 바 식물체로부터의 새로운 의료활성 단백질의 확인 가능성은 높다고 하겠다. 국제 시장의 규모는 당뇨병 치료제인 인슈린의 경우만으로도 연간 약 5조원 정도로 단백질성 의료활성 물질의 세계 시장은 엄청나다.

5. 고등식물체에 생산된 의료활성 단백질

1) Leukenkephalin

신경 전달물질인 엔케팔린(enkephalin)의 일종인 루엔케팔린(leukenkephalin)은 단 다섯개의 아미노산으로 되어 있는 매우 짧은 단백질로서 마취제로 사용된다. Vandekerckhove (1989) 등은 루엔케팔린의 유전자를 기계로 합성하여 크론한뒤, 아라비돕시스(Arabidopsis thaliana)라는 소형 식물의 종자 저장 단백질 중의 하나인 2S 알부민 유전자의 단백질 암호 부위 내로 삽입하고 전체 재조합 DNA를 고등식물 형질전환용 유전자 운반체에 삽입하였다. DNA의 고등식물체로의 도입 과정을 통해 상기의 재조합된 유전자를 아라비돕시스 또는 oilseed rape(깨의 일종)에 도입하고 단백질의 생성을 유도하였다. 아라비돕시스와 깨에 생산된 단백질은 루엔케팔린이 2S 알부민 내에 형성된 재조합된 단백질이었으며 단백질 분해 효소인 트립신(trypsin) 처리에 의해 분리되고 정제된 루엔케팔린의 양은 전체 단백질의 약 0.1% 그리고 염이 함유된 용액으로 추출 가능한 단백질의 3% 이상의 수율을 보여 식물체를 통한 본 마취제 생산의 가능성 및 경제성을 확인해 주었다.

2) 임뮤노글로불린(Immunoglobulin)

항체는 동물체(사람 포함)에 병원균 등이 물질이 침입하면 생성되어 동물체에 저항력을 부여하는 단백질이며(항체의 골격을 이루는 단백질을 임뮤노글로불린이라 부른다) 따라서 항체는 병의 치료에 유용하게 쓰이며 현재는 동물의 세포 배양에 의해 주로 생산이 추후되고 있으나 생산의 효율성이 낮다. 미국의 Hiatt(1989) 등은 임뮤노글로불린의 유전자를 고등식물 형질전환용 유전자 운반체에 삽입하고 근두암 종양균을 이용하여 담배에 도입하고 발현을 시키는데 성공하였으며 생성된 항체의 함량은 담배 잎 전체 단백질의 약 1.3% 수준이었다. 이는 임상에 사용되는 항체의 생산이 고등식물을 통해 이루어질 수 있음을 명시해 주며 연구의 진전과 함께 의학 분야에 획기적인 공헌을 할 수 있을 것이다.

3) 인슈린(Insulin)

사람의 인슈린 유전자를 고등식물 형질전환용 유전자 운반체에 삽입하고 역시 근두암 종양균을 이용하여 담배에 도입 및 발현을 시키는 과정이 이루어졌다. 당뇨병 치료제인 인슈린의 유전자가 도입된 담배는 전체 단백질의 약 0.5~1.0%에 해당하는 인슈린을 생산하고 있으며(생체량 100g 중 약 25mg의 인슈린 생산) 대장균의 경우 인슈린 유전자만을 도입시 생산되는 인슈린 단백질의 대장균 내에서의 불안정성(단백질이 생성되는데로 단백질 분해 효소에 의한 분해가 일어남)에 견주어 담배 내에서 생산되는 인슈린의 안정성은 특기할 만하다(홍주봉, 1990). 전세계적으로 당뇨병 환자가 1억3천만에 이름에 비추어 적극적인 연구의 진전에 의한 당뇨병 치료에의 공헌이 기대된다.

4) 알부민(Albumin)

임상 과정에서 비교적 널리 쓰이는 알부민은 인간의 혈액에서 주로 분리·정제되어 사용되고 있으나 혈액의 공급이 원활하지 않을 뿐 아니라 채취된 혈액이 바이러스 등으로 감염되었을 시 분리된 알부민의 사용은 매우 위험할 수 있다. 최근 네덜란드의 연구팀에 의해 사람의 알

부면 유전자가 감자에 도입되었으며 그 결과로 알부민을 생산하는 감자가 개발되었다.

6. 전 망

현재 임상에 사용되고 있는 단백질성 의약품은 약 250종(함경수, 1989)으로 아직 이들 대부분이 생화학적인 분리 과정을 통해 생물체로부터 분리되어 사용되고 있다. 생화학적인 분리에 비해 유전공학 기법을 이용한 생산의 효율성은 이미 수차례 입증된 바 있어 가까운 장래에 이들 단백질의 유전자들이 크론될 것이며 뒤이어 미생물체를 통한 또는 고등식물체를 통한 생산이 시도될 것이다.

미생물체에 이들 의료활성 단백질의 유전자를 도입하여 단백질을 생산하는 과정은 다른 생물체 즉 식물체나 동물체를 이용한 생산에 비해 그 과정이 간단하여 아마도 당분간은 유전공학에서 주로 사용되는 생물체로서의 자리는 확고할 것이다. 그러나 미생물체는 진핵세포체(세포 내에 핵을 가지고 있는 생물체로 고등생물체가 주류를 이룸)와 단백질의 완성 과정에서 차이를 보이고 있으며 또한 전체 유전자, 지놈(genome)의 크기가 작은 반면 수용할 수 있는 외래 유전자에도 한계가 있을 것으로 예상된다. 즉 미생물체의 경우 유전자를 도입시킴으로써 유용 단백질을 생산케 하는 데에 한계가 예측된다. 한편 식물체는 단백질 완성 과정에 있어 고등동물체(사람 포함)와 뚜렷한 차이점을 나타내지 않는다.

또한 지놈의 크기도 미생물체에 비해 엄청나게 커 외래 유전자를 수용하는데 큰 무리가 없으리라 예측된다. 물론 큰 지놈 크기는 일종의 단백질의 생산 수율을 높이는데 어려움을 주겠으나 고등식물체의 발달과정을 이해하면 큰 지놈 크기가 반드시 다수의 단백질 종류를 의미하지 않는 것을 쉽게 알 수 있다. 그 예로 성숙된 고등식물의 종자 내의 단백질의 종류는 매우 단순하며 일군의 단백질이 종종 대부분을 차지한다.

가까운 장래에 동물 세포의 배양 기술의 발

달과 고등동물체를 대상으로 한 유전자 도입 및 발현 기술의 발달에 따라 인체에서 작용하는 생리활성 물질과 좀 더 동일한 단백질성 의료활성 물질이 동물체를 통해 생산되게 될 것이며 이 분야의 발달은 의약계에 지대한 영향을 미칠 것이다.

그러나 동물을 통한 상기의 연구는 실험재료의 확보의 어려움과 동물체가 가지는 기내배양 및 분화의 어려움 등에 의해 비교적 그 발달이 더딜 것이다.

유전자의 도입과 발현에 의한 고등식물로부터의 고가의 의료활성 단백질의 생산 가능성은 이제 확실시되고 있다. 아울러 의문시 되고 있는 경제성 여부도 곧 확인될 수 있으리라 여겨진다.

태양광선과 토양 그리고 수분만을 요구하는 고등식물체는 우리 인류에게는 더 없이 중요한 동반자이고 이러한 백익무해한 고등식물체가 우리 인류의 질병을 고치는 의약품을 생산해 주는 것은 이미 정해진 자연현상이 아닌가 여겨지며 약리학의 발달과 함께 고등식물체의 열매나 종자 또는 식용의 잎의 섭취에 의한 의료활성 단백질의 인체에의 투여가 가능할 날을 기대해 본다.

<참 고 문 헌>

- 1) 함경수, 1989. 국내의약품 개발현황 및 전망에 관한 조사, 한국과학기술연구원 부설 유전공학센터 기본연구사업 보고서.
- 2) 홍주봉, 1990. 핵산조작에 의한 항바이러스성 식물의 개발, 과학기술처 국책연구사업 보고서.
- 3) Hiatt, A., Cafferkey, R. and Bowdish, K. 1989. Production of antibodies in transgenic plants. *Nature* 342: 76-78.
- 4) Horsch, R., Fraley, R., Rogers, S., Sanders, P., Lloyd, A. and Hoffmann, N. 1984. Inheritance of functional foreign genes in plants. *Science* 223: 496-498.
- 5) Vandekerckhove, J., Van Damme, J., Van Lijsebettens, M., Botterman, J., De Block, M., Vandewiele, M., De Clercq, A., Leemans, J., Van Montagu, M. and Krebbers, E. 1989. Enkephalins produced in transgenic plants using modified 2S seed storage proteins. *Bio/Tech.* 7: 929-932. ▲