

## 식물 대사공학에 의한 산업용 지방산 생산연구 현황

이경렬 · 김현욱\*  
농촌진흥청 국립농업과학원

### Metabolic engineering for production of industrial oils in transgenic plants

Kyeong-Ryeol Lee · Hyun Uk Kim\*

Department of Agricultural Bio-resources, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration,  
Suwon 441-707, Korea

**Abstract** Seed storage lipids of plants, essential for seed germination as energy supplier, have been used for humankind and animal as nutrition sources. Fatty acids of vegetable oils have the characters appropriate for industry based on their chain length, the position and the number of double bonds. So they are used as raw materials for lubricants, cosmetics, soaps, paints and plastics or as energy source such as bio-diesel. However, there is a limit that applies vegetable oils from typical oil crops for industrial uses, mainly because of the mixture of five common fatty acids. Therefore, identification of unusual fatty acids for industrial uses from diverse plant resources and metabolic engineering to produce unusual fatty acids have been carried out in Arabidopsis as a model for the study of oilseed biology. Here, we discuss the unusual fatty acids for industrial uses, the genes synthesizing them in lipid metabolism, and the current limits in production of transgenic plants accumulating unusual fatty acid in their seeds. In addition, we describe our work on metabolic engineering of *Brassica napus* for the production of the unusual fatty acid ricinoleic acid in the seed, because of its industrial uses.

#### 서 론

식물유는 1분자의 glycerol에 3분자의 지방산이 에스터 결합을 이룬 triacylglycerol (TAG) 형태로 식물의 종자에 저장되어 있다. 세계적으로 주요한 식물유인 코코넛, 옥수수, 면화, 콩, 유채, 올리브, 팜의 종자유는 튀김용, 샐러드용, 제빵제과용, 향신료 등의 식용으로 사용된다. 식물유에 존재하는 지방산들은 대부분 탄소수 18개의 불포화 지방산으로 인체에서 생합성이 불가능한 필수지방산을 다량 함유하고 있어 성인병 예방 등의 건강증진 효과가 있음이 널리 알려져 있다.

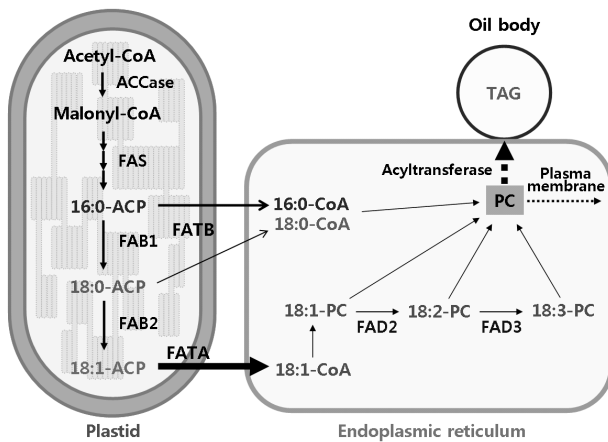
식물유의 지방산은 대부분 식용으로 쓰이지만 전체 생산량의 약 20%가 산업용으로도 쓰이고 있으며 (Metzger and Bornscheuer 2006) 장차 석유같은 화석에너지 자원의 고갈이 예상되는 상황과 환경오염과 지구온난화 문제 등의 해결을 위한 친환경 에너지 개

발의 측면에서 더욱 널리 쓰일 잠재성을 갖고 있다. 주요 유지작물이 아닌 자트로파 (*Jatropha*), 호호바 (*Jojoba*), 피마자 (*Castor bean*) 등의 야생식물에서 생산되는 지방산 또는 왁스 성분은 일반 작물에서는 볼 수 없는 유용한 산업용 유지 또는 산업원료로 사용되고 있으며 그 생산량은 더욱 확대될 것으로 기대되고 있다. 산업용 식물유는 바이오디젤 등의 연료, 윤활유 혹은 첨가제로 쓰이거나 잉크, 플라스틱, 비누, 화장품, 페인트, 코팅, 접착제의 산업원료로 사용된다. 바이오디젤로서의 식물유는 경유와 휘발유에 비해 불순물이 적어 오염물질을 훨씬 적게 배출한다는 장점이 있지만 생산비가 석유연료에 비해 비경제적이어서 사용량이 매우 적었다. 그러나 최근의 기술 향상으로 생산비용이 감소하였고 국제석유가의 상승으로 인해 가격경쟁력이 생긴데다가 유럽 등 세계 각국과 한국은 정부차원에서 세제혜택, 최소혼합비율 강제 등으로 지원하고 있어 바이오디젤 생산을 위해 식물유 생산량 증대를 위한 연구가 계속적으로 이루어질 필요가 있다.

본 고찰에서는 식물 종자유와 합성기작과 종자유와 산업적 사용을 위한 산업 특이지방산 (unusual fatty acid) 합성에 관여하는 유

\*Corresponding author Tel 031-299-1703 Fax 031-299-1672

E-mail: hukim64@korea.kr



**Figure 1.** The processes of lipid biosynthesis in seed of typical plants. Acetyl-CoA converts to malonyl-CoA by ACCase and elongates to long chain acyl-ACP by fatty acid biosynthesis (FAS) enzymes including FAB1 and FAB2 in plastid. Long chain acyl-ACP is digested to free acyl form by thioesterases (FATA and FATB) and transfer from plastid to endoplasmic reticulum (ER) to form long chain acyl-CoA. In ER, 18:1-CoA is transferred to sn-1 and sn-2 position of phosphatidylcholine (PC) to form 18:1-PC. The 18:1-PC is desaturated to 18:2-PC by FAD2 and then 18:2-PC is further desaturated to 18:3-PC by FAD3, sequentially. These PCs are component of phospholipids in plasma membrane and converted to triacylglycerol (TAG) by acyltransferases. TAG in seed is deposited into oil body budded from ER membrane

전자들과 특지방산을 종자에서 더 많이 합성하기 위한 저장지질 (storage lipid) 대사공학연구의 현황과 앞으로의 전망에 대해 논하고자 한다.

#### 지방산과 지질 합성 경로

식물의 지방산은 광합성 잎조직 세포의 plastid 막에 존재하는 갈락토티지질 (galactolipid)과 그 외 세포막에 존재하는 인지질 (phospholipid)과 종자 저장지질인 TAG 형태로 glycerol과 에스터 결합하여 존재한다. 지방산은 plastid에서 합성이 시작되고 적당한 크기가 되면 위치할 세포내 소기관으로 이동하게 된다. 식물종자 내의 지방산합성과 저장지질 합성과정은 Figure 1과 같다. 지방산은 plastid에서 지방산중합효소 (fatty acid synthase, FAS)에 의해 탄소수가 16-18개 크기로 합성된다. Acetyl-CoA가 acetyl-CoA carboxylase (ACCase)에 의해 합성된 malonyl-CoA가 acyl carrier protein (ACP)와 결합하여 malonyl-ACP가 되고, 계속적으로 acetyl-CoA에서 탄소 2개를 계속 전달받으면서 FAS에 의해 C16:0-ACP로 길어진다. C16:0-ACP는 fatty acid biosynthesis 1 (FAB1 or 16:0-ACP elongase)에 의해 C18:0-ACP로 연장되고 이것은 다시 FAB2 (18:0-ACP  $\Delta$  9-desaturase)에 의해 C18:1-ACP가 된다. C16:0-ACP와 C18:0-ACP는 fatty acyl-ACP thioesterase B (FATB)에 의해, C18:1-ACP는 FATA에 의해 ACP와의 thioester 결합이 떨어져나가면서 세포질로 방출된다. 지방산은 plastid 외부에서는 coenzymeA (CoA)와 결합된 상

태인 acyl-CoA로 존재하며 plastid 밖의 지질대사의 기질로 사용된다. ER에 들어간 acyl-CoA는 glycerol 골격에 에스터 결합을 이루며 세포막의 인지질 구성성분이 되고 특히 인지질인 phosphatidylcholine (PC)의 sn-2 위치에 결합된 C18:1 지방산은 fatty acid desaturase 2 (FAD2)에 의해 C18:2가 되며 이것은 FAD3에 의해 C18:3이 되어 식물의 가장 큰 특성인 불포화 지방산을 만든다. 종자에서는 종자특이 아실전달효소인 diacylglycerol acyltransferase (DGAT)에 의해 diacylglycerol (DAG)이 TAG로 전환되어 지질체 (Oil body)에 저장된다.

#### 종자유 산업적 이용성

대부분의 식물 종자유를 구성하는 지방산은 팔미트산 (Palmitic acid, C16:0), 스테아르산 (Stearic acid, C18:0), 올레산 (Oleic acid, C18:1), 리놀레산 (Linoleic acid, C18:2), 리놀렌산 ( $\alpha$ -Linolenic acid, C18:3)의 5가지이며 이 지방산들은 식물의 세포막을 이루는 인지질의 구성성분이기도 하다 (Table 1). 식물유가 산업용 유지로서 보다 경제성을 갖추려면 정제와 가공 과정을 할 필요가 없는 단일 지방산이거나 산업적으로 유리한 물리·화학적 특성을 가져야 한다. 예컨대 산화안정성이 높으면 유통유로 쓰기 좋고 산화안정성이 매우 낮으면 페인트나 코팅용으로 사용하기에 적합하다. 이를 위해서는 지방산의 특정위치에 이중결합이 하나만 존재하거나 특정위치에 기능기가 존재해야 한다. 그러나 불행히도 거의 대부분의 식물유는 이들 5개 지방산의 혼합물로 존재하여 각 지방산의 특정 물성이 두드러지지 않기 때문에 산업용으로는 적합하지 않다. 만약 식물지질 대사 조절에 의해 5가지 일반지방산중 특정 지방산의 함량을 식물종자에 80% 이상 합성하거나 특정물성을 갖는 기능기를 갖는 새로운 지방산을 합성한다면 목적에 따라 경제성을 갖춘 산업용 유지 혹은 산업원료로 쓰이게 될 것이다.

#### 특지방산의 종류와 특성

야생식물의 종자에서는 작물의 일반적인 5종류 지방산들과 다른 화학구조를 가진 지방산들이 발견되고 있는데 이를 특지방산 (Unusual fatty acid)이라고 부른다. 특지방산은 식물종자의 세포막 합성단계에 합성되지만 PC에 결합한 채 세포막에 존재할 수 없으며 PC에서 방출되어 TAG 형태로 종자의 지질체로 이동하여 존재한다. 세포막의 특지방산에 대한 배타적 기작은 정확히 알려져 있지 않으나 특지방산이 저장 지방인 TAG 형태로 종자에 존재할 때에는 식물에 독성이 없지만 인지질 형태로 존재할 때에는 세포막의 기능에는 나쁜 영향을 주기 때문일 것이라 생각된다 (Millar et al. 2000). 식물종자에서 발견되는 특지방산의 종류는 수백 가지에 이르며 대부분 재배되지 않는 비경작 야생식물에서 발견되고 있다. 식물에서 발견된 대표적인 특지방산은 Table 2와 같다. 일반적인 16-18 탄소수보다 길이가 작은 중쇄 지방산 (medium chain fatty acid)인 카프릴산 (Caprylic acid, C8:0), 카프르산

**Table 1** Five common fatty acids structures and industrial uses found in seeds of oil crops

Common name (Abbreviation)	Chemical structure	M.P.	B.P.	Industrial uses
Palmitic acid (C16:0)		63 °C	351.5 °C	Paints, lubricants, plastics
Stearic acid (C18:0)		69.6 °C	383 °C	Candle, cosmetic, rubber/plastics additive, surfactant
Oleic acid (C18:1Δ <sup>9</sup> )		13.4 °C	360 °C	Cosmetic, soap, lubricants, bio-diesel
Linoleic acid (C18:2Δ <sup>9,12</sup> )		-5 °C	229 °C	Soap, emulsifier, cosmetic
α-Linolenic acid (C18:3Δ <sup>9,12,15</sup> )		-11 °C	230 °C	Paint, varnish, coating

(Capric acid, C10:0), 라우르산 (Lauric acid, C12:0)은 쿠페아와 캘리포니아만 월계수의 종자에서 발견된다. 이중결합의 위치가 일반적인 9, 12, 15번째 위치가 아니라 특이하게 6번째에 하나만 존재하는 고수풀의 페트로셀린산 (Petroselinic acid, C18:1Δ<sup>6</sup>)과 6, 9, 12번 위치에 이중결합이 존재하는 감마리놀렌산 (γ-Linolenic acid, C18:3Δ<sup>6,9,12</sup>)이 있다. 일반적인 12번 이중결합위치에 hydroxy기가 존재하는 피마자의 리시놀레산 (Ricinoic acid)과 epoxy기가 존재하는 vernolic acid가 있다. 이외에도 일반적인 이중결합은 cis-형태이나 특이이중결합인 trans-형태로 공액이중결합 (Conjugated double bond)를 형성하고 있는 엘레오스테아르산 (α-oleostearic acid)과 calenic acid가 있다. 이중 감마리놀렌산의 경우는 혈압, 혈당, 혈중 콜레스테롤 농도를 조절하는 데에 매우 중요한 역할을 하는 프로스타글란딘의 전구체로서 건강기능성 식품으로 시판되고 있다 (Kapoor and Huang, 2006). 나머지 특이지방산들은 모두 물성이 산업용으로 쓰기에 적합하다. 예를 들면 카프릴산, 카프르산, 라우르산 같은 중쇄포화지방산들은 비누 등의 산업원료로 쓰기에 적합하고 vernolic acid는 가소제, 접착제, 페인트 등의 성분 또는 바이오 나일론의 전구체로서 산업적 가치가 있다 (Jaworski and Cahoon 2003). 리시놀레산은 뒤에 자세히 기술할 것이다.

이렇게 특이지방산이 산업적 이용에 적합한 이유는 상기 언급한 지방산들처럼 산업적 원료로의 적당한 탄소수, 적절한 위치의 이중결합과 기능을 가지고 있기 때문이다. 그러나 특이지방산을 생산하는 야생식물은 불균일한 개화기와 낮은 수량, 종자내의 독소단백질 및 알러지 유발 단백질의 다량 존재 등으로 인해 품종화에 어려움이 있다. 특이 지방산을 합성하는 유전자를 이용한 유전자 재조합과 형질전환기술을 이용하여 유채 등의 유지작물의 종자에서 특이지방산을 야생식물 자체가 생산하는 수준으로 생산할 수 있다면 석유 화학 원료를 대체할 수 있는 친환경적 산업원료를 지속적으로 생산하는 수단이 될 수 있을 것이다.

산업 특이지방산 합성 유전자

현재까지 다수의 특이지방산 합성 유전자들이 야생식물에서 클로닝되고 기능이 확인되었다 (Table 2). 캘리포니아만 월계수 (California bay)의 종자에서 발견된 지방산 중합반응 정지 효소인 acyl-ACP thioesterase는 일반작물에서 합성되지 않는 라우르산의 합성에 관여한다. 일반적인 acyl-ACP thioesterase는 식물의 엽록체에서 16:0-ACP를 팔미트산 (C16:0)으로 만드는 FATB와 18:1-ACP를 올레산 (C18:1)으로 만드는 FATA 두 종류가 존재하는데, 캘리포니아만 월계수의 acyl-ACP thioesterase는 진화형 (divergent form)으로서 쿠페아 등 몇몇 종에서는 10:0-ACP 또는 14:0-ACP에 기질특이성을 보이는 thioesterase가 발견된다. 이들 효소의 기작에 의해 탄소수가 10-14개인 중쇄지방산이 세포질로 방출하여 종자에서 축적되게 된다 (Voelker et al. 1992). 특이지방산 합성효소의 유전자중 가장 진화형이 많고 기능적으로 다양한 대표적인 효소군은 FAD2 효소 계열이다. FAD2는 올레산의 12-13번째 탄소 사이에 cis-이중결합 형성을 촉매하여 리놀레산을 만들어낸다. FAD2 진화형 중 최초로 밝혀졌고 가장 대표적인 특이지방산 합성유전자는 피마자 종자에서 발견된 oleate Δ12-hydroxylase (FAH12)이다 (van de Loo et al. 1995; Table 2). 이 효소는 FAD2와는 달리 올레산의 12번째 탄소에 이중결합 대신 hydroxy (-OH)기를 도입하도록 촉매하여 리시놀레산 (ricinoic acid)을 만들어낸다. 이 외에도 올레산의 12번째와 13번째 탄소 사이에 각각 epoxy기의 전달과 삼중결합을 각각 촉매하는 epoxygenase와 acetylenase (Lee et al. 1998), 탄소3개 간격으로 존재하는 이중결합 대신 2개 간격으로 존재하는 공액이중결합 (Conjugated double bond)을 형성케 하는 conjugase (Cahoon et al. 1999; Dyer et al. 2002) 등이 발견되었다 (Table 2). 이러한 다양한 FAD2 진화형인 효소는 기존 FAD2와 매우 유사하다. 진화형이 매우 다양하나 그 기질은 PC의 sn-2 위치에 결합한 올레산으로 동일하며 몇몇의

**Table 2** Representative unusual fatty acids and their synthesis enzymes found in seeds of wild-species plants

Unusual fatty acid	Producing plant (Korean name)	Scientific name	Family	Biosynthetic enzyme
Caprylic acid (C8:0)	Cuphea	<i>Cuphea painteri</i>	Lythraceae	Acyl-ACP thioesterase
Capric acid (C10:0)	Cuphea	<i>Cuphea koehneana</i>	Lythraceae	Acyl-ACP thioesterase
Lauric acid (C12:0)	California bay Cuphea	<i>Umbrella californica</i> <i>Cuphea carthagenensis</i>	Lauraceae Lythraceae	Acyl-ACP thioesterase
Petroselinic acid (C18:1 $\Delta^6$ )	Coriander (고수풀) Ferula (회향)	<i>Coriandrum sativum</i> <i>Foeniculum vulgare</i>	Apiaceae Apiaceae	C16:0-ACP $\Delta^4$ -desaturase
$\gamma$ -Linolenic acid (C18:3 $\Delta^{6,9,12}$ )	Borage (지치) Evening primrose (달맞이꽃) Blackcurrant (까막까치밥나무)	<i>Borago officinalis</i> <i>Oenothera biennis</i> <i>Ribes nigrum</i>	Boraginaceae Onagraceae Saxifragaceae	Linoleate $\Delta^6$ -desaturase
Ricinoleic acid (12-hydroxy-C18:1 $\Delta^9$ )	Castor bean (피마자)	<i>Ricinus communis</i>	Euphorbiaceae	Oleate $\Delta^12$ -hydroxylase
Vernolic acid (12,13-epoxy-C18:1 $\Delta^9$ )	Crepis Vernonia Euphorbia	<i>Crepis palaestina</i> <i>Vernonia galamensis</i> <i>Euphorbia lagascae</i>	Compositae Compositae Euphorbiaceae	Oleate 12,13-epoxygenase
Crepenynic acid (C18:2 $\Delta^{9,12a}$ )*	Crepis Parsley English ivy	<i>Crepis alpina</i> <i>Petroselinum crispum</i> <i>Hedera helix</i>	Compositae Apiaceae Araliaceae	Oleate $\Delta^12$ -acetylenase
$\alpha$ -Eleostearic acid (C18:3 $\Delta^{9,11t,13t}$ )**	Balsam pear (여주) Tung tree (유동나무) Mongolian snakegourd (하늘타리)	<i>Momordica charantia</i> <i>Aleurites fordii</i> <i>Trichosanthes kirilowii</i>	Cucurbitaceae Euphorbiaceae Cucurbitaceae	$\Delta^12$ Conjugase
Calendic acid (18:3 $\Delta^{8t,10t,12}$ )	Pot marigold (금잔화)	<i>Calendula officinalis</i>	Compositae	$\Delta^9$ Conjugase

\* 'a' means triple bond (acetylene bond).

\*\* 't' means trans-double bond.

예외를 제외하고는 모두 12번 탄소 위치에서 결합의 변형이나 기능기의 전달을 촉매하며 ER에 존재하는 membrane에 결합한 효소라는 공통점이 있다. 그리고 이들 FAD2 진화형인 효소들의 아미노산 서열도 매우 유사하다. 예컨대, 애기장대의 FAD2와 피마자의 FAH12 간에 아미노산 서열은 66% 일치하고 80% 유사하며 피마자 내에서도 FAD2와 FAH12 간에는 아미노산 서열이 73% 일치하고 85% 유사하다. 그래서 이들 FAD2 진화형들의 아미노산 서열을 모두 비교하여 FAH12만이 특이적으로 다른 부분들을 찾아내었고 이 부분들을 FAD2의 서열에 맞게 돌연변이시킨 결과 FAD2처럼 desaturation 기능을 갖게 되었고 그 부분에 해당하는 FAD2 서열을 FAH12에 맞게 돌연변이시켰을 때에는 FAH12처럼 hydroxylation 기능을 갖는다는 것을 알아내었다 (Broun et al. 1998; Broadwater et al. 2002)

페트로셀린산과 감마리놀렌산은 공통적으로 6번 탄소에 이중결합을 갖고 있으나 이를 촉매하는 유전자는 Table 2에 기술했듯이 서로 다르다. 페트로셀린산 합성효소는 C16:0-ACP  $\Delta^4$ -desaturase로 이것은 C18:0-ACP  $\Delta^9$ -desaturase (FAB2)의 진화형이다. 이 효소 작용 후에 FAB1의 작용으로 연장되면서 C18:1 $\Delta^6$ 인 페트로셀린산이 만들어진다 (Cahoon and Ohlrogge. 1994). 요약하자면 C16:0-ACP  $\rightarrow$  C16:1 $\Delta^4$ -ACP  $\rightarrow$  C18:1 $\Delta^6$ -ACP 인 것이다. 반면 감마리놀렌산의

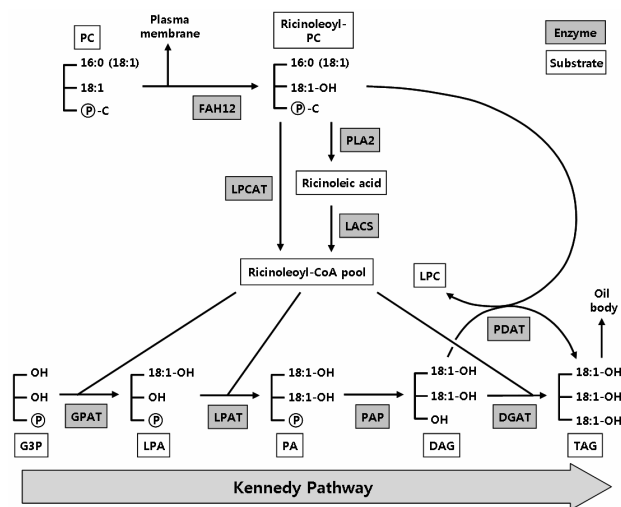
합성을 촉매하는 효소는 linoleate  $\Delta^6$ -desaturase로서 이는 sphingolipid  $\Delta^8$ -desaturase의 진화형이고 sphingolipid 대신 linoleic acid의 6번 탄소 위치에 이중결합 형성을 촉매하는 효소이다 (Sayanova et al. 1997).

#### 산업 특이지방산 합성 형질전환식물

형질전환 식물 종자에 생산된 특이지방산이 실질적인 산업용으로 쓰이기 위해서는 종자유에 특이지방산 함량이 60-90% 정도로 매우 높아 정제비용을 줄여 석유화학원료에 대해 가격경쟁력을 갖추어야 한다. 현재까지 특이지방산을 생산하는 연구와 형질전환 식물이 다수 보고되었지만 고품량의 특이지방산을 생산하여 경제성을 갖춘 형질전환 식물은 라우르산을 생산하는 형질전환 유채 밖에 없다 (Table 3). 이 유채는 1994년 미국과 1996년 캐나다에서 각각 GMO승인을 받았다 (<http://agbios.com/dbase.php>). 그 외 여러 특이지방산 합성효소 유전자를 모델식물인 애기장대에 도입하여 생산 시도하는 연구가 많았지만 표 3에서 보듯이 결과는 현재까지 좋지 않았다. 그 이유는 특이지방산 합성 효소 이외에도 세포막 인지질인 PC에서 합성된 특이지방산이 종자 저장지질 형태인 TAG로의 전환에 관여하는 효소들이 필요하기 때문인 것 같다 (Figure 2).

**Table 3** Accumulation efficiency of unusual fatty acids in seeds of transgenic plants

Unusual fatty acid	Producing plant		Transgenic plant		Reference
	Species	%	Species	%	
Lauric acid	California bay	65	Oilseed rape ( <i>B. napus</i> )	60	Voelker et al. 1992
Vernolic acid	<i>Crepis palaestina</i>	60	<i>Arabidopsis thaliana</i>	15	Lee et al. 1998
Crepenynic acid	<i>Crepis alpina</i>	70	<i>Arabidopsis thaliana</i>	25	Lee et al. 1998
Petroselinic acid	Coriander	80	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1-15	Suh et al. 2002
Ricinoleic acid	Castor bean	90	<i>Arabidopsis thaliana</i>	~30	Burgal et al. 2008
$\alpha$ -Eleostearic acid	<i>Momordica charantia</i>	65	Soybean ( <i>Glycine max</i> )	17	Cahoon et al. 1999
Calendic acid	<i>Calendula officinalis</i>	55	Soybean ( <i>Glycine max</i> )	20	Cahoon et al. 2006



**Figure 2.** Predicted synthetic process of ricinoleoyl-TAG in castor endosperm. Kennedy pathway is the main process of TAG biosynthesis from G3P by catalysis of several acyltransferases including GPAT, LPAT and DGAT. Ricinoleoyl-PC is converted from oleoyl-PC by FAH12 and ricinoleoyl-CoA converted from ricinoleoyl-PC is supplied for substrate in Kennedy pathway. Phospholipid:diacylglycerol acyltransferase (PDAT) can directly transfer acyl group to DAG. 3-ricinoleoyl-TAG, final product of Kennedy pathway, is stored in oil body. FAH12: Oleate  $\Delta$ 12-hydroxylase, PC: Phosphatidyl choline, PLA2: Phospholipase A2, LPCAT: Lysophosphatidyl choline acyltransferase, LACS: Long-chain acyl-CoA synthetase

작물에서는 특지방산 자체를 불필요한 물질로 인식하여 분해대사 기작을 작동시킴이 라우르산 합성 유체에 대한 연구에서 확인되었다. 라우르산이 종자지방산의 60%를 차지하는 형질전환 유체의 미숙종자에서  $\beta$ -oxidation과 glyoxylate enzyme 활성이 높음을 보였는데 (Voelker et al 1996). 이것은 종자가 발달하는 동안에 일반적으로 일어나지 않는 분해대사 경로가 활성화되었음을 뜻하고 이 때문에 그 이상의 특지방산이 생산되지 못하였다. 일반적인 유지작물에는 특지방산을 다량 생산하는 야생식물처럼 특지방산을 구별하여 세포막에서 종자의 지질체로 전환하는 시스템이 발달되어있지 않은 것으로 생각된다.

종자유 TAG 합성 유전자

종자유 TAG 합성은 glycerol-3-phosphate (G3P)에 acyl-CoA 지방산을 서로 다른 3종의 acyltransferase에 의해 에스터 결합시키는 Kennedy pathway라는 반응에 의해 생성된다 (Figure 2). 이 pathway는 ER에서 G3P의 sn-1 위치의 OH기가 첫 번째 아실전달효소인 glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT)에 의해 아실화되어 lysophosphatidic acid (LPA)가 되고, LPA의 sn-2 위치의 OH가 두 번째 lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAT)에 의해 아실화되어 phosphatidic acid (PA)가 된다. PA는 phosphatidic acid phosphatase (PAP)에 의해 탈인산화되면서 sn-3 위치에 OH기를 갖는 diacylglycerol (DAG)을 형성하고 diacylglycerol acyltransferase (DGAT)에 의해 마지막 sn-3에 아실기를 전달받아 TAG가 생성된다 (Kennedy, 1961). 이렇게 종자의 TAG합성에 관여하는 다수의 아실전달효소 유전자가 클로닝되어 그 기능이 연구되었다.

ER에 존재할 것으로 추정되는 GPAT가 애기장대에 최소 8개가 있는 것으로 동정되었으나 (Zheng et al. 2003) 종자의 TAG 합성에 관여한다는 확실한 증거를 밝히진 못했다 (Kim et al. 2005; Beisson et al. 2007). LPAT는 애기장대에서 5개의 유전자군이 존재하며, LPAT2가 종자의 TAG합성에 관여하며, 이 유전자의 결함시 자성 불임이 유도되었다. 또한 LPAT는 식물에 따라 지방산에 대한 기질 특이성을 나타내었다 (Kim et al. 2005; Brown et al. 2002; Knutzon et al. 1995; Lassner et al. 1995; Kuntzon et al. 1999).

DGAT는 식물에서 3종류가 밝혀졌는데 이들은 서로 다른 구조를 가진 비연관 효소이다. DGAT1과 DGAT2는 10개의 membrane spanning domain이 있는 ER의 membrane 효소인 반면 (Hobbs and Hills et al. 2000; Zou et al. 1999; Lardizabal et al. 2001; Kroon et al. 2006), DGAT3는 수용성단백질 효소로 땅콩에서 동정되었다 (Saha et al. 2006). 특히 DGAT2는 특지방산을 TAG로 합성하는데 지배적으로 관여함이 보고되었다 (Kroon et al. 2006). 피마자의 DGAT1와 DGAT2가 동정되었는데 (He et al. 2004a, He et al. 2004b; Kroon et al. 2006) 이중 피마자 DGAT2는 리시놀레산에 특이적인 것으로 추정된다. 피마자의 hydroxylase 유전자 FAH12를 클로닝하여 애기장대에 형질전환한 결과 리시놀레산 함량이 총 중

자 지방산의 17%에 머물렀으나 (Broun and Somerville 1997), 피마자 *DGAT2* 유전자를 같이 형질전환한 결과 30%로 높아졌다 (Burgal et al. 2008). 이런 기능 외에도 *DGAT*는 종자의 지질함량 증진에도 연관이 있는 것 같다. 애기장대에서 *DGAT*를 종자특이적으로 과발현시켰을때 종자무게와 종자유 함량이 증대되었다는 보고가 있었다 (Jako et al. 2001).

*TAG* 합성의 주경로인 *Kennedy pathway* 외에도 *PC*의 지방산을 직접 *DAG*에 전달하여 *TAG*를 형성하는 기작에 관여하는 phospholipid: diacylglycerol acyltransferase (*PDAT*) 유전자가 클로닝되었다 (Dahlqvist et al. 2000). 이 효소의 존재는 피마자와 *Crepis* 종자에서 처음으로 발견되었는데, 이것은 phospholipase보다 더 활성이 강하고 미숙종자에서는 *PC*에 결합된 특이지방산을 선택적으로 제거하기 때문에 특이지방산을 함유하는 *TAG*를 효율적으로 생산하는 데에 매우 유용한 효소로 생각된다 (Banas et al. 2000).

세포막 성분인 인지질과 종자의 *TAG* 간의 대사에 관여하는 효소에는 long-chain acyl-CoA synthetase (*LACS*)가 있는데, 이것은 자유지방산의 carboxy기와 coenzymeA가 thioester 결합을 하도록 촉매하는 효소이다. 애기장대에서 9개의 *LACS* 유전자가 동정되었는데 (Shockey et al. 2002), 그 중 *LACS8*과 *LACS9*는 엽록체에 존재하여 합성된 지방산을 세포질로 방출하는 데에 관여하며 (Schnurr et al. 2002) *LACS6*와 *LACS7*은 peroxisome에 존재하여 종자 발아에 필요한 영양원인 지방산을 공급하는 데에 관여한다 (Fulda et al. 2002; Hayashi et al. 2002; Fulda et al. 2004). 그 외에 *LACS2*는 cuticle 생성에 관여하는 것으로 밝혀졌으나 (Schnurr et al. 2004) 아직 종자 특이적으로 *TAG* 합성에 관여하는 *LACS*는 밝혀지지 않았다.

#### 피마자 산업지방산 생산 연구

리시놀레산은 피마자 종자에서는 생산되는 특이지방산으로 종자 총지방산 함량의 90% 가량 차지하고 있다. 리시놀레산은 점성과 산화안정성이 각각 유채유보다 8배, 16배 가량 높아 산업적 용도가 매우 커서 (Scholz and da Silva 2008) 그 유도체는 항부식용 코팅, 나일론, 플라스틱, 도로, 화장품, 비누, 세제 등으로 사용되고 있으며 매우 낮은 온도에서도 견딜 수 있어 항공기의 연료 첨가물과 윤활유로도 사용된다 (Caupin 1997). 현재 인도 등에서 대부분의 피마자를 재배하여 리시놀레산을 얻고 있지만 여기에는 몇 가지 제약점이 존재한다. 첫째, 피마자 종자에는 극독성 물질인 리신 (*Ricin*)과 독성 알칼로이드인 리시닌 (*Ricin*)과 2S albumin 등의 알러지 유발 물질이 존재한다. 피마자유를 추출할 때에 독성물질들은 추출되지 않으므로 문제가 없지만 사람의 경우 종자 몇 알을 익히지 않고 먹으면 죽을 수 있고 압착하고 남은 피마자유박을 가축에게 사료로 줄 경우 가축성장에 큰 문제를 일으킬 수 있다. 그래서 미국은 피마자의 상업적 재배를 금지하고 피마자유를 전량 수입에 의존하고 있다. 둘째, 재배되고 있으나 품종화가 이뤄지지 않았기 때문에 농업형질이 좋지 않다. 예를 들면 개화기가 일치하지 않아 계속 종자가 맺히고 초장이 3 미터에 이르는데 이것은 인

력이 많이 들고 수확에 어려움을 준다. 이런 문제들을 해결하고자 몇몇 연구팀들이 피마자의 독성물질을 생명공학적인 방법으로 억제하는 연구와 전통육종을 통해 제거하는 품종화 연구를 수행하고 있다. 비록 피마자의 형질전환이 보고되긴 했으나 효율이 매우 낮고 조직질편을 다루기가 쉽지 않은 실정이고 (Malathi et al. 2006; Sujatha and Sailaja 2005; Sujatha et al. 2009) 품종화에도 시간이 많이 필요할 것이다. 셋째, 위의 문제들 때문에 가격이 비싸다. 지난 10여 년간 1톤당 US\$900로 유채유보다 2배 비싼 가격대를 형성하고 있다 (Scholz and da Silva 2008). 비싼 만큼 산업적 용도는 줄어들 수밖에 없다. 그래서 피마자의 리시놀레산만을 유지작물의 종자에서 저렴한 가격으로 효율적으로 생산하려는 생명공학 연구가 수행되고 있다.

위에서 기술했듯이 리시놀레산의 합성에 가장 중요한 유전자는 *FAH12*이며 이 유전자를 도입한 형질전환 애기장대에서 리시놀레산을 포함한 hydroxy fatty acid가 종자 총 지방산의 17%가 합성되었고 피마자 *DGAT2*를 더불어 도입하였을 때 30%로 증진되었다 (Broun and Somerville 1997; Burgal et al. 2008; Table 3). 이 실험들에 사용된 애기장대는 fatty acid elongase 1 (*fae1*) mutant로 20:1과 22:1 지방산의 합성이 억제되어 리시놀레산의 전구체인 올레산의 함량이 증대된 것이었다. 올레산의 함량이 더욱 증대된 *fae1/ fae2* 애기장대에 피마자 유래의 *FAH12*와 진균 *Claviceps purpurea* 유래의 *FAH12*를 각각 도입한 실험에서는 각각 19.2%와 25.0%의 hydroxy fatty acid가 축적된 결과를 보였다 (Smith et al. 2003; Meesapyodsuk and Qiu 2008). 애기장대에서 리시놀레산 합성증대에 관여하는 인자를 찾고자 하는 연구가 진행되었다. *FAH12*가 형질전환되어 리시놀레산을 생산하는 애기장대에 ethylmethylsulfonate (*EMS*) 처리하여 리시놀레산이 원래의 17%에서 감소된 돌연변이를 스크린하여 유전자를 탐색한 결과 NADH:cytochrome b5 reductase (*CBR*)가 돌연변이 된 것을 확인하였다. *CBR*은 식물에서 지방산의 desaturation 반응시 desaturase에 전자를 전달하는 기능을 한다. *FAH12*에 의한 hydroxylation도 *FAD2*에 의한 desaturation과 거의 유사한 기작을 통해 반응이 일어나며, 전자의 공급이 필요하기 때문에 *CBR*의 돌연변이가 *FAH12*효소 활성에 영향을 줄을 알아낼 수 있었다 (Kumar et al. 2006). 또한 *FAH12* 유전자가 형질전환된 애기장대에 피마자 종자발현 유전자 라이브리리를 종자특이 프로모터에 결합시켜 무작위로 형질전환하여 리시놀레산 합성을 증진하는 피마자 유전자를 선발하는 시도를 하였다. 그 결과 지질체에 결합하는 단백질인 올레오신이 형질전환된 애기장대에서 리시놀레산의 함량이 종자 총지방산의 17%에서 20%로 약 3% 증가하였다. 이 실험에서는 결정적인 리시놀레산 증가에 관여하는 유전자를 선별할 수 없었지만 피마자 자체의 합성 능력을 고려할 때, 보다 많은 형질전환 식물의 분석이 필요할 것으로 생각된다 (Lu et al. 2006). 현재까지 애기장대에서 리시놀레산의 합성은 종자 지방산의 약 30%까지 이루어져 경제성을 고려한 성공을 위해서는 피마자 지질합성대사에 관한 집중적인 연구가 필요하다. 본 연구실에서는 피마자 지질대사에 관여하는 유전자들에 대한 기능연구와

지금까지 밝혀진 지질대사에 근거한 pinpoint target 유전자들을 애기장대에 도입하여 리시놀레산의 증대와 유지작물인 유채에서 리시놀레산을 생산하는 연구를 수행하고 있다.

## 전 망

식물유는 인간과 밀접한 관계가 있다. 거의 대부분이 식용으로 사용되고 있지만 식물유의 석유화합물과의 구조와 성질의 유사성을 볼 때 산업적 응용전망은 밝다. 현재 전체 식물유 소비의 20%를 산업용으로 쓰고 있고 그 점유율과 전체 식물유 소비는 더욱 늘어날 것이다. 식물의 지질대사에 관한 연구가 모델식물인 애기장대를 대상으로 진행되어 왔으며, 일부 유지작물에서 지질대사경로와 관련 효소 유전자들이 밝혀지고 있다. 종자유의 지질대사 경우 일반적인 일차 대사체와는 달리 식물생장에 있어 직접적으로 영향을 주지 않으므로 유전공학에 의한 조절에 악영향이 없다. 현재 지질대사를 생명공학적으로 조절하여 승인받은 GM작물은 FAD2를 RNAi로 억제한 올레산 고품유 콩과 thioesterase를 도입한 라우르산 생산 유채가 있다 (<http://agbios.com/dbase.php>).

향후에는 새로운 측면에서 지질대사조절 연구가 대두될 것이다. 즉 석유 화학에너지 사용에 의한 환경오염과 지구온난화 문제를 해결할 수 있는 대체 석유화학원료와 식물 지질을 이용한 산업적 생필품 원료와 고부가가치의 산업원료 지방산을 형질전환 식물의 종자에서 생산하는 것이다. 위의 2가지 지질대사를 변형시킨 형질전환 유지작물의 경우는 하나의 유전자만을 도입한 경우로 단순한 대사경로를 조절하므로 개발이 어렵지 않았으나 앞으로 생산하고자 하는 산업적 특이지방산들로 그 경로는 기존의 지방산들의 합성경로에는 없거나 다르고 작용하는 효소들도 일반작물에서 존재하지 않는 특이적인 것 같다. 그러므로 이런 특이지방산을 합성하는 식물시스템을 일반 유지작물의 종자 내에 도입, 구현해야 성공할 것이다. 그러기 위해서는 특이지방산 생산 식물에서 TAG 합성 경로의 모든 효소 유전자에 대한 연구가 선행되어야 할 것이고 다수의 유전자를 유지작물에 도입되어야 할 것이다. 산업지방산을 생산하는 유지작물 개발의 모델로 본 연구실에서는 피마자의 리시놀레산을 유채에서 생산하는 연구를 수행 중에 있으며, 종자 지방산의 60% 이상을 성공적으로 생산한다면 경제적 파급효과는 매우 클 것으로 생각된다.

## 적 요

식물 종자의 저장지질은 종자의 발아에 필수적인 에너지를 공급하는 역할을 하는데 오랫동안 인류와 동물의 영양 공급원이 되었다. 식물유의 지방산은 탄소의 길이와 탄소 사이의 이중결합의 위치, 개수에 따라 각각의 산업적 특성을 나타내어 윤활유, 화장품, 비누, 페인트, 플라스틱 등의 원료 또는 바이오디젤 같은 에너지원으로도 사용되고 있다. 하지만 대부분의 유지작물이 갖고 있는 지방산은 5가지로 국한되어 있어 산업용으로 쓰이기에는 한계가 있

다. 따라서 다양한 식물자원으로부터 산업적으로 유용한 특이 지방산의 탐색과 생명공학을 이용한 지방산 합성과 지질 대사조절을 위한 연구가 진행되어왔다. 이 리뷰에서는 산업적으로 유용한 특이 지방산의 종류와 그것을 합성하는 유전자에 대해 알아보고 또한 유지작물에 그 유전자를 도입하여 특이지방산을 생산하는 형질전환 작물의 예와 그 한계에 대해서 짚어보고자 한다. 특히 피마자의 특이지방산인 리시놀레산은 산업적으로 매우 유용한 지방산으로 유지작물인 유채에서 리시놀레산 생산연구가 본 실험실에서 진행 중이다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 기관고유 과제 (과제번호: 200902FHT010407004)의 연구비지원으로 수행되었습니다.

## 인용문헌

- Banas A, Dahlqvist A, Stahl U, Lenman M, Stymne S (2000) The involvement of phospholipid:diacylglycerol acyltransferases in triacylglycerol production. *Biochem Soc Trans* 28:703-705
- Beisson F, Li Y, Bonaventure G, Pollard M, Ohlrogge JB (2007) The acyltransferase GPAT5 is required for the synthesis of suberin in seed coat and root of Arabidopsis. *Plant Cell* 19:351-368
- Broadwater JA, Whittle E, Shanklin J (2002) Desaturation and hydroxylation - residues 148 and 324 of Arabidopsis FAD2, in addition to substrate chain length, exert a major influence in partitioning of catalytic specificity. *J Biol Chem* 277:15613-15620
- Broun P, Somerville C (1997) Accumulation of ricinoleic, lesquerolic, and densipolic acids in seeds of transgenic Arabidopsis plants that express a fatty acyl hydroxylase cDNA from castor bean. *Plant Physiol* 113:933-942
- Broun P, Shanklin J, Whittle E, Somerville C (1998) Catalytic plasticity of fatty acid modification enzymes underlying chemical diversity of plant lipids. *Science* 282:1315-1317
- Brown AP, Slabas AR, Denton H (2002) Substrate selectivity of plant and microbial lysophosphatidic acid acyltransferases. *Phytochemistry* 61:493-501
- Burgal J, Shockey J, Lu C, Dyer J, Larson T, Graham I, Browse J (2008) Metabolic engineering of hydroxy fatty acid production in plants: RcDGAT2 drives dramatic increases in ricinoleate levels in seed oil. *Plant Biotechnol J* 6:819-831
- Cahoon EB, Ohlrogge JB (1994) Metabolic evidence for the involvement of a  $\Delta 4$  palmitoyl-ACP desaturase in petroselinic acid synthesis in coriander endosperm and transgenic tobacco cells. *Plant Physiol* 104:827-837
- Cahoon EB, Carlson TJ, Ripp KG, Schweiger BJ, Cook GA, Hall SE, Kinney AJ (1999) Biosynthetic origin of conjugated double bonds: production of fatty acid components of high-value drying oils in transgenic soybean embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:12935-12940

- Cahoon EB, Dietrich CR, Meyer K (2006) Conjugated fatty acids accumulate to high levels in phospholipids of metabolically engineered soybean and *Arabidopsis* seeds. *Phytochemistry* 12:1166-1176
- Caupin HJ (1997) Products from castor oil: Past, present, and future. In *Lipid Technologies and Applications* edited by Gunstone FD and Padley FB. Marcel Dekker 787-795
- Dahlqvist A, Stahl U, Lenman M, Banas A, Lee M, Sandager L, Ronne H, Stymne S (2000) Phospholipid:diacylglycerol acyltransferase: an enzyme that catalyzes the acyl-CoA-independent formation of triacylglycerol in yeast and plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:6487-6492
- Dyer JM, Chaptal DC, Kuan JC, Mullen RT, Turner C, McKeon TA, Pepperman AB (2002) Molecular analysis of a bifunctional fatty acid conjugase/desaturase from tung. Implications for the evolution of plant fatty acid diversity. *Plant Physiol* 130:2027-2038
- Fulda M, Shockey J, Werber M, Wolter FP, Heinz E (2002) Two long-chain acyl-CoA synthetases from *Arabidopsis thaliana* involved in peroxisomal fatty acid  $\beta$ -oxidation. *Plant J* 32:93-103
- Fulda M, Schnurr J, Abbadi A, Heinz E, Browse J (2004) Peroxisomal acyl-CoA synthetase activity is essential for seedling development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 16:394-405
- Hayashi H, De Bellis L, Hayashi Y, Nito K, Kato A, Hayashi M, Hara-Nishimura I, Nishimura M (2002) Molecular characterization of an *Arabidopsis* acyl-coenzyme A synthetase localized on glyoxysomal membranes. *Plant Physiol* 130:2019-2026
- He X, Turner C, Chen GQ, Lin JT, McKeon TA (2004) Cloning and characterization of a cDNA encoding diacylglycerol acyltransferase from castor bean. *Lipids* 39:311-318
- He X, Chen GQ, Lin JT, McKeon TA (2004) Regulation of diacylglycerol acyltransferase in developing seeds of castor. *Lipids* 39:865-871
- Hobbs DH, Hills MJ (2000) Expression and characterization of diacylglycerol acyltransferase from *Arabidopsis thaliana* in insect cell culture. *Biochem Soc Trans* 28:687-689
- Jako C, Kumar A, Wei Y, Zou J, Barton DL, Giblin EM, Covello PS, Taylor DC (2001) Seed-specific over-expression of an *Arabidopsis* cDNA encoding a diacylglycerol acyltransferase enhances seed oil content and seed weight. *Plant Physiol* 126:861-874
- Jaworski J, Cahoon EB (2003) Industrial oils from transgenic plants. *Curr Opin in Plant Biol* 6:178-184
- Kapoor R, Huang YS (2006) Gamma linolenic acid: an anti-inflammatory omega-6 fatty acid. *Curr Pharm Biotechnol* 7:531-534
- Kennedy EP (1961) Biosynthesis of complex lipids. *Fed Proc Am Soc Exp Biol* 20:934-940
- Kim HU, Li Y, Huang AH (2005) Ubiquitous and endoplasmic reticulum-located lysophosphatidyl acyltransferase, LPAT2, is essential for female but not male gametophyte development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 17:1073-1089
- Knutzon DS, Lardizabal KD, Nelson JS, Bleibaum JL, Davies HM, Metz JG (1995) Cloning of a coconut endosperm cDNA encoding a 1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase that accepts medium-chain-length substrates. *Plant Physiol* 109:999-1006
- Knutzon DS, Hayes TR, Wyrick A, Xiong H, Maelor Davies H, Voelker TA (1999) Lysophosphatidic acid acyltransferase from coconut mediates the insertion of laurate at the sn-2 position of triacylglycerols in lauric rapeseed oil and can increase total laurate levels. *Plant Physiol* 120:739-746
- Kroon JT, Wei W, Simon WJ, Slabas AR (2006) Identification and functional expression of a type 2 acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT2) in developing castor bean seeds which has high homology to the major triglyceride biosynthetic enzyme of fungi and animals. *Phytochemistry* 67:2541-2549
- Kumar R, Wallis JG, Skidmore C, Browse J (2006) A mutation in *Arabidopsis* cytochrome b5 reductase identified by high-throughput screening differentially affects hydroxylation and desaturation. *Plant J* 48:920-932
- Lardizabal KD, Mai JT, Wagner NW, Wyrick A, Voelker T, Hawkins DJ (2001) DGAT2 is a new diacylglycerol acyltransferase gene family: purification, cloning, and expression in insect cell of two polypeptides from *Mortierella ramanniana* with diacylglycerol acyltransferase activity. *J Biol Chem* 276:38862-38869
- Lassner MW, Levering CK, Davies HM, Knutzon DS (1995) Lysophosphatidic acid acyltransferase from meadowfoam mediates insertion of erucic acid at the sn-2 position of triacylglycerol in transgenic rapeseed oil. *Plant Physiol* 109:1389-1394
- Lee M, Lenman M, Banas A, Bafor M, Singh S, Schweizer M, Nilsson R, Liljenberg C, Dahlqvist A, Gummesson P, Sjö Dahl S, Green A, Stymne S (1998) Identification of non-heme diiron proteins that catalyze triple bond and epoxy group formation. *Science* 280:915-918
- van de Loo FJ, Broun P, Turner S, Somerville C (1995) An oleate 12-hydroxylase from *Ricinus communis* L. is a fatty acyl desaturase homolog. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:6743-6747
- Lu C, Fulda M, Wallis J and Browse J (2006) A high-throughput screen for genes from castor that boost hydroxy fatty acid accumulation in seed oils of transgenic *Arabidopsis*. *Plant Journal* 45:847-856
- Malathi B, Ramesh S, Venkateswara Rao K, Dashavantha Reddy V (2006) Agrobacterium-mediated genetic transformation and production of semilooper resistant transgenic castor (*Ricinus communis* L.). *Euphytica* 147:441-449
- Meesapyodsuk D, Qiu X (2008) An oleate hydroxylase from the fungus *Claviceps purpurea*: Cloning, functional analysis, and expression in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 147:1325-1333
- Metzger JO, Bornscheuer U (2006) Lipids as renewable resource: current state of chemical and biotechnological conversion and diversification. *Appl Microbiol Biotechnol* 7:13-22
- Millar AA, Smith MA, Kunst L (2000) All fatty acids are not equal: discrimination in plant membrane lipids. *Trends Plant Sci* 5: 95-101
- Saha S, Enugutti B, Rajakumari S, Rajasekharan RL (2006) Cytosolic triacylglycerol biosynthetic pathway in oilseeds. Molecular cloning and expression of peanut cytosolic diacylglycerol acyltransferase. *Plant Physiol* 141:1533-1543
- Sayanova O, Smith MA, Lapinskas P, Stobart AK, Dobson G, Christie WW, Shewry PR, Napier JA (1997) Expression of a borage desaturase cDNA containing an N-terminal cytochrome



- b5 domain results in the accumulation of high levels of  $\Delta$  6-desaturated fatty acids in transgenic tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:4211-4216
- Schnurr JA, Shockey JM, de Boer G-J, Browse JA (2002) Fatty acid export from the chloroplast. Molecular characterization of a major plastidial acyl-coenzyme A synthetase from *Arabidopsis*. 129:1700-1709
- Schnurr J, Shockey J, Browse J (2004) The acyl-CoA synthetase encoded by LACS2 is essential for normal cuticle development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 16:629-642
- Scholz V, da Silva JN (2008) Prospects and risks of the use of castor oil as fuel. *Biomass and Bioenergy* 32:95-100
- Shockey JM, Fulda MS, Browse JA (2002) *Arabidopsis* contains nine long-chain acyl-coenzyme A synthetase genes that participate in fatty acid and glycerolipid metabolism. *Plant Physiol* 129:1710-1722
- Smith MA, Moon H, Chowrira G, Kunst L (2003) Heterologous expression of a fatty acid hydroxylase gene in developing seeds of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 217:507-516
- Suh MC, Schultz DJ, Ohlrogge JB (2002) What limits production of unusual monoenoic fatty acids in transgenic plants? *Planta* 215:584-595
- Sujatha M, Sailaja M (2005) Stable genetic transformation of castor (*Ricinus communis* L.) via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated gene transfer using embryo axes from mature seeds. *Plant Cell Rep* 23:803-810
- Sujatha M, Lakshminarayana M, Tarakeswari M, Singh PK, Tuli R (2009) Expression of the cry1EC gene in castor (*Ricinus communis* L.) confers field resistance to tobacco caterpillar (*Spodoptera litura* Fabr) and castor semilooper (*Achoea janata* L.) *Plant Cell Rep* 28:935-946
- Voelker TA, Worrell AC, Anderson L, Bleibaum J, Fan C, Hawkins DJ, Radke SE, Davies HM (1992) Fatty acid biosynthesis re-directed to medium chains in transgenic oilseed plants. *Science* 257:72-74
- Voelker TA, Hayes TR, Cranmer AM, Turner JC, Davies HM (1996) Genetic engineering of a quantitative trait - metabolic and genetic parameters influencing the accumulation of laurate in rapeseed. *Plant J* 9:229-241
- Zheng Z, Xia Q, Dauk M, Shen W, Selvaraj G, Zou J (2003) *Arabidopsis AtGPAT1*, a member of the membrane-bound glycerol-3-phosphate acyltransferase gene family, is essential for tapetum differentiation and male fertility. *Plant Cell* 15: 1872-1887
- Zou J, Wei Y, Jako C, Kumar A, Selvaraj G, Taylor DC (1999) The *Arabidopsis thaliana* TAG1 mutant has a mutation in a diacylglycerol acyltransferase gene. *Plant J* 19:645-653

(접수일자 2009년 6월 25일, 수리일자 2009년 6월 27일)