

식물의 탄소대사공학 연구동향

김동헌 · 이시명 · 박종석 · 김수진 · 김범기 · 윤인선 · 김돌이 · 변명옥

Current status on carbon metabolic engineering in plants

Donghem Kim · Si-Myung Lee · Jong-Suk Park · Soo-Jin Kim · Beom-Ki Kim · In-Sun Yun · Dul-I Kim · Myung-Ok Byun

Received: 1 June 2010 / Accepted: 8 June 2010
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Yield productivity of staple crops must be increased at least 50% by 2050, in order to feed the world population which is expected to reach 90 billions. Photosynthetic carbon assimilation and carbohydrate metabolism leading to the production of starch would be the final frontier to quest for new sources of technology enabling such a drastic increase of crop productivity. In this review, attempts to genetically engineer plant photosynthetic carbon reduction cycle and metabolic pathways to increase starch production are introduced.

Keywords ADP-glucose pyrophosphorylase, calvin cycle, flux control analysis, photosynthesis, yield productivity, transgenesis

서론

금세기에 들어 작물의 생산성 향상은 새로운 화두로 대두되고 있다. 2007년과 2008년에는 유례가 없을 정도의 곡물가 상승이 일어나 중국 18% 세계 인구가 지속적으로 증가하여 2050년에는 90억명에 달할 것으로 예상되고 있으며 이들을 먹여 살리기 위해서는 현재 보다 50% 정도의 곡물생산이 증가해야 한다. 또한 개발도상국의 경제 발전에 따른 육류 수요 증가와 이에 따른 사료 수요의 증가, 온실가스 방출억제와 지구온난화에 대응한 바

이오에너지 원료 수요 증가 등 작물의 생산성 증가는 그 어느 때보다 절실한 실정이다.

식물의 광합성을 통해 생성된 탄수화물은 지구상의 생명체가 삶을 유지할 수 있는 기본적인 에너지원이다. 식물은 1차 생산자로서 공기 중의 이산화탄소를 유기태의 탄소화합물로 전환시키며, 이후 복잡한 대사 네트워크를 통해 다양한 생체 유기물질을 생산한다. 작물이 생산, 저장하는 전분, 지질 및 단백질 등은 농업생산성 측면에서 많은 연구자들의 관심을 끌어왔으며, 특히 유전자의 분리, 변형, 유전자전환 등 생명공학 기술이 발달함에 따라 작물의 탄소대사를 변형시켜 생산성을 증가시키기 위한 대사공학연구가 활발하게 진행되고 있다.

본 총설에서는 작물의 생산성과 광합성 및 탄소대사의 관계를 고찰하고 생명공학 기술을 이용한 작물 생산대사형질 개선 연구현황에 대해 간략하게 소개하고자 한다.

작물의 광합성과 생산성

작물의 광합성은 대기중의 이산화탄소가 유기물의 형태로 전환되는 최초의 과정으로 종자 중의 전분 등 저장물질 생산도 앞의 광합성에 의해 생성된 탄수화물에서 유래된 것이다. 그러나 작물의 생산성과 광합성 대사활성간의 관계에 대해서는 논쟁의 여지가 있다. 일례로 밀 재배품종과 야생종의 광합성을 비교한 실험의 결과를 보면 재배품종의 광합성 활성이 야생종에 비해 낮았다는 Evans와 Dunstone (1970)의 보고 이외에도 작물의 생산성과 광합성 간에 상관관계가 없다는 연구 결과들은 상당히 많이 있다 (Evans 1993, 1998). 그러나 호주의 빵밀 계통에 국한하여 작물의 생산성과 광합성을 조사한 결과 Evans와 Dunstone의 초기 실험과는 반대로 정의 상관관계를 보여 유전적 다양성이 적은 품종간의 광합성 차이와

S.-M. Lee · J.-S. Park · S.-J. Kim · B.-K. Kim · I.-S. Yun · D.-I. Kim · M.-O. Byun · D. H. Kim (✉)
국립농업과학원
(National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon, Korea)
e-mail: donghem@rda.go.kr

품종개발 시기 및 각 품종의 생산성은 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 이는 작물의 품종 개량이 이루어지면서 점차적으로 광합성 효율과 생산성이 함께 증가하였음을 보여주는 것이다 (Watanabe et al. 1994). 또한 동일한 계통의 봄밀을 유럽의 각지에서 이산화탄소의 농도가 350 및 650 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 인 조건에서 재배하였을 경우 (ESPACE project), 이산화탄소의 농도가 증가함에 따라 최정단엽의 광합성은 50%가 증가하였고 곡물 생산성은 35% 증가하였다는 연구 결과는 광합성 대사의 활성과 작물의 생산성이 밀접하게 관련되어있음을 보여주는 것이다 (Bender et al. 1999; Mitchell et al. 1999).

작물의 생산성은 다양한 형질에 의해 지배되며 교배 육종을 통한 작물 생산성의 획기적 증가 (녹색혁명)은 작물의 키를 작게하는 단간 유전자의 활용과 질소 비료 등 농자재의 대량 투입에 기인한 바가 크다. 작물의 형태 등 교배 육종을 통한 작물 생산성에 의한 추가적인 증진이 어려운 현실을 고려하고, 현대생명공학 기술을 활용할 경우 작물의 특정형질에 대한 선택적 개선이 가능하다는 점을 고려할 때 작물의 광합성과 탄소대사는 생산성 증진을 위한 최후의 프론티어라고 할 수 있을 것이다.

광합성 탄소동화 대사

광합성 탄소동화대사의 (Calvin-Benson-Bassham Cycle) 개선을 통한 작물 생산성의 증가는 많은 연구자의 관심을 끄는 매력적인 연구 분야임에 틀림이 없다. 11종의 효소가 관여하는 13 반응의 cyclic pathway인 탄소동화 대사는 RubisCO에 의한 5탄당 ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP)와 이산화탄소의 결합에 의해 2분자의 3탄당 3-phosphoglycerate (3PG)가 생성되는 carboxylation 단계, 광합성 명반응의 산물인 NADPH와 ATP를 사용하여 3PG를 glyceraldehyde-3-phosphate (G3P)와 dihydroxyacetone phosphate (DHAP)로 변환시키는 reduction 단계, 그리고 마지막으로 3탄당인 G3P와 DHAP를 이용하여 5탄당인 RuBP를 재생하는 regeneration 단계로 구성되어있다. 광합성 탄소동화 대사의 생산물인 3탄당 G3P 혹은 DHAP는 sucrose 합성과 전분 합성대사에 사용되거나, cellulose와 같은 세포 구조물질 생산, shikimate, isoprenoid, 핵산물질 생산 대사 등 복잡하게 얽혀있는 대사의 기질로 사용된다. 이와 같이 광합성 대사는 생명시스템을 구축하는 기본적인 에너지대사이며, 다양한 생체물질을 생산하는 식물대사 네트워크의 중심축으로서의 기능을 담당하고 있다. 이와 같은 이유로 인해 많은 연구자들은 작물의 광합성 개선을 통해 생산성을 높이고자 하는 노력을 경주하고 있다.

생명공학 기술을 이용하여 생물대사를 개선하기 위해서는 대사에 참여하는 각 효소의 효소학적 특성 분석을 통해 핵심 효소의 규명이 필요하다. 이러한 특성 분석을

바탕으로 Calvin-Benson cycle에 관여하는 11종의 효소 중 RubisCO, SBPase, FBPase, PRKase 등이 빛, 엽록체 스트로마의 pH, Mg^{+2} 농도 등에 의해 조절되며, 비가역적 반응에 관여한다는 점에 근거하여 핵심효소로 발굴되었다 (Portis et al. 1977; Woodrow and Berry 1988).

대사에 관여하는 효소가 실제로 대사흐름에 어느 정도 영향을 미치는지는 각 효소의 상대적 대사조절 상수 (Flux control co-efficient)를 구하면 가능하다 (Fell 1997). 대사조절 상수는 형질전환 등의 방법을 통해 각 효소의 활성을 변화시킨 후 분석 대상 대사흐름을 조사하면 구할 수 있으며, 각 효소가 대사 흐름 조절에 어느 정도 영향을 미치는지를 의미한다. 즉 대사조절 상수가 0인 경우, 그 효소는 대사흐름 조절에 전혀 기여하지 않는다는 것을 의미하고, 상수가 1인 경우에는 그 효소가 대사흐름을 전적으로 조절한다는 것을 의미한다. 동일한 대사에 관여하는 효소의 대사조절 상수를 모두 합하면 1이 된다. 광합성 탄소동화 대사에 관여하는 주요 효소의 활성을 anti-sense 등의 기법을 활용하여 변화시킨 후 각 효소의 대사흐름 조절 상수를 구한 결과를 보면 RubisCO의 경우 재배환경에 따라 0 - 1까지 변화하며, aldolase (0.07 - 0.55), transketolase (0.07 - 1.0), SBPase (0.3 - 0.75) 등이 조건에 따라 상당한 정도로 광합성 탄소대사 흐름에 영향을 미치는 것으로 나타났다 (Rodermeil et al. 1988; Stitt and Schultz 1994; Hudson et al. 1992; Haake et al. 1998; Henkes et al. 2001; Harrison et al. 1998; Raines 2003). 이와 같이 작물의 광합성 대사의 흐름에 영향을 미치는 효소는 생명공학을 이용한 대사증진 연구의 주요 타겟이 되기도 한다. 광합성 탄소대사의 경우 RubisCO와 SBPase가 탄소대사흐름 조절을 주도하는 것으로 나타나 광합성 대사의 증진을 위해서는 이들 효소의 활성을 높일 필요가 있다. 이와 관련하여 Miyagawa 등 (2001)은 cyanobacteria의 FBPase/SBPase 유전자를 담배에 도입하여 발현시켰을 경우 광합성 능력이 1.24배 증진되었고 생체중이 1.5배 증가하였음을 보고한바 있다. 또한 애기장대 유래의 SBPase 유전자를 담배에서 과발현시켰을 경우에도 광합성과 biomass의 증가가 보고된 적이 있어 광합성 증진을 위해 대사흐름 조절 단계의 효소활성을 증가시키는 개발전략의 효용가능성을 뒷받침하고 있다 (Raines 2003).

광합성 대사흐름 분석을 통해 대사흐름 조절 상수가 0에서 1까지인 것으로 분석된 RubisCO는 여러 가지로 흥미 있는 효소라고 할 수 있다. RubisCO는 매년 10^{11} 톤에 달하는 대기 중의 이산화탄소를 유기물 형태로 동화시켜 지구상의 생명체가 살아갈 수 있는 에너지를 공급하는 역할을 하는 광합성 대사의 첫단계를 담당하고 있다 (Siegenthaler and Sarmiento 1993). C3 식물의 경우 RubisCO가 체내 전체 질소의 1/4, 수용성 단백질의 1/2을 차지할 정도로 (Portis and Parry 2007) 많은 양의 RubisCO를 생산하

는데 이것은 Rubisco의 catalytic rate 가 3 - 10 s⁻¹에 불과한 매우 비효율적인 효소로서 광합성 대사를 위해서는 많은 양의 단백질이 필요하다는 것 이외에도 저장기관의 발달과 저장단백질 생산에 필요한 질소공급원으로서의 역할 때문이다 (Murchie et al. 2002). 즉 광합성 자체의 측면에서 보면 식물은 Rubisco에 과도한 투자를 하고있는 것처럼 보인다. 식물의 rubisco를 반으로 줄여도 광합성에는 영향을 받지 않는다. Rubisco의 양이 줄어든 식물을 광량 조건을 달리하여 재배한 후 재배 조건과 동일한 환경에서 광합성을 측정할 경우 Rubisco의 대사흐름 조절 상수는 0.2 이하로 조절 기능이 매우 제한적이어서 과생산 되었음을 알 수 있다 (Stitt et al. 1991; Hudson et al. 1992) 한편 antisense Rubisco유전자가 도입된 담배를 고온의 강한 빛조건에서 재배할 경우의 대사흐름조절 상수는 1에 근접한 값을 보이는데 이는 광합성 탄소대사의 흐름이 거의 전적으로 Rubisco에 의존적임을 나타내는 것이다 (Krapp et al. 1994). 광합성 탄소동화 대사에서 Rubisco가 차지하는 비중으로 인해 생명공학 기술을 활용한 Rubisco의 개선과 이를 통한 광합성 형질 개선을 위해 많은 연구자들이 노력을 기울이고 있다 (Speitzer et al. 2002, 2005; Andrews and Whitney 2003). Rubisco의 반응속도가 낮고 대기 중의 이산화탄소와 산소가 효소의 작용부위에 경쟁적으로 결합하는 특성을 개선하기 위해 다양한 자원의 Rubisco를 탐색하여 우수한 특성을 가진 유전자를 발굴하거나, 유전공학 기술을 이용하여 Rubisco의 구조를 개선하기 위한 연구가 널리 진행되었으나 Rubisco의 이산화탄소에 대한 선택성 증가와 효소활성간에 역의 관계가 있다는 사실을 알게되면서 어려움을 겪고 있다. 즉 반응속도가 높은 효소의 경우 산소에 대비한 이산화탄소에 대한 선택성은 낮아지고 이산화탄소와 더 잘 결합하는 효소의 반응속도는 그렇지 못한 것에 비해 낮은 경향을 보인다. 따라서 반응속도와 이산화탄소에 대한 선택성이 같이 높은 유전자를 발굴하여 활용하는 것이 Rubisco의 생명공학적인 개선에 첫 번째 과제라고 할 수 있으며 이러한 측면에서 red algae의 rubisco는 두가지 성질 모두 우수한 것으로 나타나 Rubisco 개선과 관련하여 주목을 받고 있다 (Whitney et al. 2001). Rubisco와 관련된 유전공학에 있어 두 번째 과제는 고등 식물과 cyanobacteria의 Rubisco는 8개의 large subunit과 8개의 small subunit으로 이루어진 제 1형에 속하는 것으로 large subunit의 유전자는 엽록체에서 그리고 small subunit 유전자는 핵에서 유래한 것으로 유전자의 개선과 구조-기능 관계를 규명하는데 필요한 in vitro에서 활성을 가진 단백질을 생산하는 것이다. 최근 Liu 등은 (2010) GroEL/GroES chaperonin 단백질을 이용하여 활성을 가진 cyanobacteria 유래의 Rubisco 단백질의 reconstitution에 성공하였으며 이는 앞으로 Rubisco 구조개선을 위한 유전공학 연구의 촉진을 위한 중요한 진

전이라고 생각된다.

광호흡과 C4 광합성

Rubisco는 광합성 탄소동화 대사를 위한 carboxylation 뿐만 아니라 대기 중의 산소와 RuBP를 결합하여 한분자의 PGA와 한분자의 2-phosphoglycolate (2-PG)를 생산하는 oxygenase의 활성도 가지고 있다. Oxygenation에 의해 생성되는 2-PG는 광호흡대사로 흘러들어가며 그 결과, Rubisco의 oxygenation 반응 2회에 CO₂ 1분자의 비율로 이산화탄소를 발생하게 된다. 이와 같은 광호흡 대사로 인해 C3 작물의 경우 광합성에 의해 유기탄소의 약 30% 정도가 다시 이산화탄소로 바뀌어 작물의 생산성의 저해요인으로 작용한다. Zhu 등 (2007,2010)에 의하면 C3 작물의 최대 광 에너지 효율은 C4작물의 효율에 비해 50%정도 낮으며 이러한 차이는 전적으로 광호흡에 기인한 것으로 C3 작물에서 광호흡에 의한 광에너지 효율을 막을 수 있다면 작물의 생산성을 높일 수 있을 것으로 기대하고 있다. C3 작물의 광호흡억제 기술 개발은 크게 3가지 전략으로 접근할 수 있다. 첫 번째 전략은 위에서도 언급한 바와 같이 Rubisco의 이산화탄소에 대한 specificity를 증진시키는 것으로 'better Rubisco' 유전자를 발굴하고 이를 활용하는 것이다. 그러나 이러한 접근의 경우 Rubisco의 oxygenation 활성이 효소의 active site에 대한 이산화탄소와 산소의 경쟁적 결합에 기인한 것이며 효소의 이산화탄소에 대한 specificity를 증가시킬 경우에는 catalytic rate의 저하 문제가 생긴다는 문제점이 기술 개발의 제한 요인으로 작용할 것으로 생각된다. 두 번째 전략으로는 Rubisco의 oxygenation 반응에 의해 생성된 2-PG가 광합성 명반응 산물 ATP와 NADPH를 소모하는 대사인 광호흡으로 진입하지 않고 광합성 탄소대사에 활용될 수 있는 형태로 전환시키는 것이다. 이와 관련하여 Kebeish 등은 (2007) 대장균 유래의 glycolate dehydrogenase, glyoxylate carboligase, tartonic semialdehyde reductase 등 glycolate 대사관련 유전자 5종을 애기장대에서 발현시켰다. 형질전환 식물체는 엽록체의 glycolate를 직접 glycerate로 전환시켰으며 광호흡대사로의 탄소흐름은 완전히 억제되지 않고 상당이 줄어들었다. 형질전환체의 성장은 대조식물에 비해 빨랐으며 지상부와 뿌리의 생체가 증가하였다. 이러한 결과는 광호흡 대사 흐름의 억제를 통해 C3 작물의 생산성이 증가할 수 있음을 보여준 예라고 할 수 있을 것이다.

작물의 광호흡으로 인한 생산성 저하를 방지하기 위한 세 번째 전략은 C3 작물에 C4 작물의 이산화탄소 농축대사 기작을 도입하는 것이다 (Sheehy et al. 2008). 이와 관련하여 필리핀에 소재한 국제미작연구소 (IRRI)주관으로 C4 광합성대사 시스템을 벼에 도입하여 벼 생산성 50%

증가 및 농업용수 및 질소비료 투입량 절감을 목표로 한 C4 벼 국제컨소시엄을 추진하고 있다. 이 프로젝트는 10 - 15년간의 장기프로젝트로 게이트 재단에서 3년간 11백만달러를 우선 기부하기로 하였고 미국, 영국, 호주 등 6개국 17개 기관 및 국제기구에서 참여하고 있다. C4 벼 개발을 위해서 동 프로젝트에서는 C3 작물인 벼 유전자원 탐색을 통해 통도조직간 거리가 짧은 C4 광합성 유전자 도입 적합 자원을 선별하고 벼와 옥수수의 광합성 탄소대사 및 유전자 발현 조절 기구의 규명, 유전자 도입 및 발현 조절 기술 개발 등 다수의 관련 유전자를 도입하여 C4 광합성을 위한 복합적 형질을 개선하기 위한 연구과제가 수행 중이다. 단순히 벼에 C4 광합성과 관련된 PEPC, PPDK, MDH, ME 등의 유전자를 도입하여 C4 광합성을 유도하기 위한 시도가 있었으나 모든 연구에 있어서 진정한 C4 이산화탄소 농축 기작이 도입된 형질전환체의 확보는 이루어지지 않았다. C4 광합성 기구를 C4 작물에 도입하여 생산성을 획기적으로 높이기 위해서는 장기간에 걸친 다양한 분야의 연구가 추진되어야 한다. 생명공학 뿐만 아니라 유전자원, 광합성대사, 세포생물학 등 다양한 전문가의 참여도 필요하다. 우리나라에서는 아직 본격적으로 C4 벼 개발을 위한 연구가 추진되고 있지 않으나 그 기대효과가 매우 크기 때문에 향후 이분야에 대한 연구 추진에 대해 진지하게 고민할 필요가 있다.

전분합성과 ADP-glucose pyrophosphorylase

전분은 광합성 대사에 의해 생성된 3-PGA로부터 일련의 탄소대사를 거쳐 생성되는 고분자 탄수화물로서 식물의 기본적인 에너지 저장물질이며, 벼, 밀, 옥수수, 감자 등 주요 작물에 있어서 전분 대사는 작물의 농업생산성과 밀접한 관련이 있다. 전분 생산대사에 관여하는 효소 중 특히 주목을 받고 있는 것은 ATP와 glucose-1-phosphate를 사용하여 전분합성의 전구물질인 ADP-glucose를 생산하는 ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase; EC 2.7.7.27)이다 (Preiss 1984, 1988, 1999; Preiss and Sivak 1998). AGPase는 전분합성 대사의 첫 번째 committed step에 관여하는 효소로서 대사흐름 조절 상수는 전분이 주 저장물질인 작물 (감자 등)에서는 1에 가까운 값을 갖는 등 전분 및 작물 생산성 대사공학 연구자에게는 매력적인 연구대상이다 (Sweetlove et al. 1996). 두 개의 large subunit과 2개의 small subunit으로 구성된 heterotetramer인 식물의 AGPase는 3-PGA, Pi와 같은 생체 대사물질과 thioredoxin이 관여하는 산화/환원반응에 의해 그 활성이 조절되는 기능을 가지고 있다 (Preiss and Sivak 1998; Fu et al. 1998; Ballicora et al. 2000, 2003, 2004; James et al. 2003; Price 1984, 1988; Slattery et al. 2000; Tiessen et al. 2002; Hendrick et al. 2003). 따라서 생명공학자들은 단순히 AGPase 유전자를 과발현

시켜서 효소의 양을 늘리기 보다는 효소의 활성조절 기능이 변화된 변이 유전자를 개발하고 이를 이용하여 작물의 AGPase와 관련된 활성조절 기능을 변화시킴으로써 AGPase의 활성과 전분생산대사 증진을 달성하는 전략적 접근법을 채용하였다. 초기에는 대장균 유래의 AGPase 유전자를 이용하였으며 그 결과 Stark 등은 (1992) 대장균 유래 AGPase 변이 유전자 *glgC-16*을 감자에 도입하였을 때 전분 생산이 30% 정도 증대하였다고 보고하여 관련 연구자의 관심을 받았다. 그러나 이 결과에 대한 반론이 Sweetlove 등에 (1996) 의하여 제기 되는 등 미생물 유래 변이 유전자를 사용하는 것에 대한 논란이 일어났다. Sweetlove 등은 Stark 등과는 다른 감자품종에서 재현하고자 하였으나 전분 생산의 증가가 일어나지 않았으며, 이는 형질전환 감자 괴경에서의 전분 생합성 증가와 함께 전분의 분해대사도 활발하게 일어나게 되었기 때문이라고 해석하였다. 미생물의 AGPase는 식물과 달리 동일한 subunit 4개로 이루어진 homotetramer로서 식물단백질에 비해 subunit간의 interaction이 단순하다는 점 등으로 인해 그 변이 유전자의 유용성 검증에 대한 관심은 이후에도 지속되고 있다. 옥수수와 벼에 도입된 미생물 유래의 AGPase 변이 유전자가 활성저해제 Pi가 첨가된 조건에서의 AGPase 활성과 종자 무게를 증진시킨다는 보고는 이러한 관심과 관련된 좋은 예라고 할 것이다 (Wang et al. 2007; Sakulsingharoj et al. 2004).

식물유래의 AGPase 변이 유전자는 식물 AGPase가 가지는 heterotetrameric 구조의 특성이 그대로 유지된다는 측면에서 미생물 유전자에 비해 체내 AGPase의 활성조절 기능에 더 큰 영향을 미칠 수 있다. 이러한 측면에서 연구자들은 감자, 애기장대, 옥수수 유래의 조절 기능 변이 유전자를 개발하였으며 이들은 모두 AGPase large subunit 유전자에서 유래하였다 (Green et al. 1998; Obana et al. 2006; Smidansky et al. 2002). 식물 유래의 AGPase 변이 유전자를 다른 종의 식물에 도입할 경우에는 재조합된 AGPase가 정상적인 활성을 가질 것인지에 대한 검토가 필요하다. Obana 등에 의하면 감자 유래의 AGPase 변이 유전자 *upreg*을 애기장대에 도입하였을 때 활성을 가진 효소를 생산하지 못하였다. 그러나 동일한 유전자를 상추에 도입하였을 경우에는 형질전환체 AGPase의 3-PGA에 의한 활성화와 Pi에 의한 활성저해 모두에서 형질이 변화되어 heterologous system에 AGPase 유전자를 발현시킬 경우에는 subunit 간 interaction에 대한 사전 검토가 필요함을 제시하였다 (Lee et al. 2009). 이와 관련하여 Smidanski 등이 제작한 옥수수 유래의 AGPase 변이 유전자 *sh2r-6hs* 도 벼와 밀에 형질전환하여 발현시켰을 때 형질전환체의 AGPase 활성조절 기능이 변화하였음을 보인 바 있다. 작물의 AGPase가 가진 활성 조절 기능을 변형시켜 전분대사를 촉진시킬 경우 작물의 생산성이 증진될 것인지

에 대해서는 논란의 여지가 있다. Sweetlove 등 (1996)이 지적인 바와 같이 작물에 따라서는 저장기관의 전분 생산이 대사의 마지막 단계가 아니라 전분 생합성과 분해 대사의 속도 차이에 따라 결정될 수 있기 때문이다. 물론 이들의 관찰이 작물 전체에 해당될 지에 대해서는 추가적인 연구가 필요하지만 옥수수의 AGPase 변이유전자를 발현시킨 형질전환 밀의 경우 4년간의 포장시험 결과 생산성의 증가가 모든 환경이 적합할 경우에만 보인다는 Meyer 등 (2007)의 연구결과는 작물의 농산물 생산성 증진을 위해서는 다수의 형질을 고려한 복합적인 기술 개발의 필요성을 제시하는 것이라고 생각된다.

AGPase 이외에도 작물의 전분생산 대사를 촉진하기 위한 연구개발 노력은 상당한 성과를 보이고 있다. Regierer 등은 (2002) 형질전환 감자의 adenylate kinase 활성을 억제하여 adenylate pool을 변형시킨 결과 비 형질전환체에 비해 60% 정도의 전분 증가, 39%의 수확량 증가를 보고한 바 있으며, Tjaden 등은 (1998) sense와 antisense 기술을 활용하여 감자의 ATP/ADP transporter 활성을 변화시킨 결과 괴경 단위 무게당 전분 함량의 증가시켰다. 이와 같이 전분생산 대사에 영향을 미칠 수 있는 연계 대사의 기능을 조절함으로써 작물의 전분생산과 종자 생산성의 증가를 기대할 수 있다. 그러나 작물의 전분 생산은 복잡한 대사 네트워크 등에 따라 영향을 받을 수 있으므로 모든 작물에 같은 정독로 적용될 수 있을 지에 대해서는 case-by case로 검정할 필요가 있다.

사 사

이 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 기관고유과제 “벼·배추의 생장 및 대사관련 유전자발현 네트워크구축 (과제번호 PJ0067582010)”에 의해 수행되었다.

인용문헌

- Andrews JT, Whitney SM (2003) Manipulating ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase in the chloroplasts of higher plants. *Arch Biochem Biophys* 414:159-162
- Ballicora MA, Frueauf JB, Fu Y, Schürmann P, Preiss J (2000) Activation of the potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase by thioredoxin. *J Biol Chem* 275:1315-1320
- Ballicora MA, Iglesias AA, Preiss J (2003) ADP-glucose pyrophosphorylase: a regulatory enzyme for bacterial glycogen synthesis. *Microbiol Mol Biol Rev* 67:213-225
- Ballicora MA, Iglesias AA, Preiss J (2004) ADP-glucose pyrophosphorylase: a regulatory enzyme for plant starch synthesis. *Photosynthesis Res* 79:1-24
- Bender J, Heertstein U, Black CR (1999) Growth and yield responses of spring wheat to increasing carbon dioxide, ozon and physiological stresses: a statistical analysis 'ESPACE-wheat' results. *Eur J Agronomy* 10:185-195
- Evans LT (1993) "Crop Evolution, Adaptation and Yield: CUP, Cambridge, MA, USA
- Evans LT (1998) Greater crop production: whence and whither?. In "Feeding a World Population of More Than Eight Billion People - A Challenge to Science" eds J.C. Waterlow, D.G. Armstrong, L. Fowdnand & R. Riley, pp. 89-97. Oxford University Press, Cary, NC, USA
- Evans LT, Dunstone RL (1970) Some physiological aspects of evolution in wheat. *Aus J Biol Science* 23:725-741
- Fell D (1997) Understanding the Control of Metabolism. Portland Press, London
- Fu Y, Ballicora MA, Leykam JF, Preiss J (1998) Mechanism of reductive activation of potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase. *J Biol Chem* 273:25045-25052
- Greene TW, Kavakli IH, Kahn ML, Okita TW (1998) Generation of up-regulated allosteric variants of potato ADP-glucose pyrophosphorylase by reversion genetics. *Proc Natl Acad Sci* 95:10322-10327
- Haake V, Zrenner R, Sonnewald U, Stitt M (1998) A moderate decrease of plastid aldolase activity inhibits photosynthesis alters the levels of sugars and starch and inhibits growth of postato plants. *Plant J.* 14:147-157
- Harrison EP, Willingham NM, Lloyd JC, Raines CA (1998) Reduced sedoheptulose -1,7-bisphosphatase levels in transgenic tobacco lead to decreased photosynthetic capacity and altered carbohydrate partitioning. *Planta* 204:27-36
- Hendriks J, Kolbe A, Gibon Y, Stitt M, Geigenberger P (2003) ADP-glucose pyrophosphorylase is activated by posttranslational redox-modification in response to light and to sugars in leaves of Arabidopsis and other plant species. *Plant Physiol* 133:838-849
- Henkes S, Sonnerwald U, Badur R, Flachmann R, Stitt M (2001) A small decrease of plastid transketolase activity in antisense tobacco transformants has dramatic effects on photosynthesis and phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 13:535-551
- Hudson GS, Evans JR, Caemmerer S, von Arvidsson YBC, Andrew TJ (1992) Reduction of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase content by antisense RNA reduces photosynthesis in transgenic tobacco plants. *Plant Physiol* 98:294-302
- James MG, Denyer K, Myers AM (2003) Starch synthesis in the cereal endosperm. *Curr Opin Plant Biol* 6:215-222
- Kebeish R, Niessen M, Thiruveedhi K, Bari T, Hirsch H-J, Rosenkranz R, Stähler N, Schönfeld B, Kreuzaler F, Perterhänsel C (2007) Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in Arabidopsis thaliana. *Nature Biotechnol.* 25:593-599.
- Krapp A, Chaves MM, David MM, Rodriguez ML, Pereira JS, Stitt M (1994) Decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in transgenic tobacco transformed with 'antisense' rbcS. VII. Impact on photosynthesis and growth in tobacco growing under extreme high irradiance and high temperature.

- Plant Cell Environ 17:945-953
- Lee S-M, Ryu Y-H, Kim S-I, Okita TW, Kim D (2009) Kinetic and regulatory properties of plant ADP-glucose pyrophosphorylase genetically modified by heterologous expression of potato upreg mutants in vitro and in vivo. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 96:161-170
- Liu C, Young AL, Starling-Windhof A, Bracher A, Saschenbrecker S, Rao BV, Rao KV, Berminghausen O, Mielke T, Hartl FU, Beckmann R, Hayer-Hartl M (2010) Coupled chaperone action in folding and assembly of hexadameric Rubisco. *Nature* 463:197-202
- Meyer FD, Talbert LE, Martin JM, Lanning SP, Greene TW, Giroux MJ (1007) Field evaluation of transgenic wheat expressing a modified ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit. *Crop Sci* 47:336-342
- Mitchell RAC, Black CR, Burkart S, Burke JI, Donnelly A, de Temmerman L, Fangmeier A, Mulholland BJ Theobald JC, van Oijen M (1999) Photosynthetic responses in spring wheat grown under elevated CO₂ concentrations and stress conditions in the European, multiple-site experiment 'SPACE-wheat'. *Eur J Agron* 10:205-214
- Miyagawa Y, Tamoi M, Shigeoka S (2001) Overexpression of cyanobacterial fructose-1,6-/Sedoheptulose-1,7-bisphosphatase enhances photosynthesis and growth *Nature Biotechnol.* 19: 965-969
- Murchie E, Yang J, Hubbart S, Horton P, Peng S (2002) Are there associations between grain-filling rate and photosynthesis in the flag leaves of field-grown rice? *J Exp Bot* 53:2217-2224
- Obana Y, Omoto D, Kato C, Matsumoto K, Nagai Y, Kavakli IH, Hamada S, Edwards GE, Okita TW, Matsui H, Ito H (2006) Enhanced turnover of transitory starch by expression of up-regulated ADP-glucose pyrophosphorylase in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science* 170:1-11
- Portis AR, Chon CJA, Mosbac A, Heldt HW (1977) Fructose- and sedoheptulose- bisphosphatase. The sites of a possible control of CO₂ fixation by light dependent changes of the stromal Mg⁺² concentration. *Biochim Biophys Acta* 461:313-325
- Portis AR, Parry MA (2007) Discoveries in Rubisco (Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase): a historical perspective. *Photosynth. Res.* 94:121-143
- Preiss J (1984) Bacterial glycogen synthesis and its regulation. *Annu Rev Microbiol* 38:419-458
- Preiss J (1988) Biosynthesis of starch and its synthesis. In: Press, J (ed) *The Biochemistry of Plants*, Vol. 14, Academic Press, San Diego, pp 181-254
- Preiss J (1999) Biosynthesis of bacterial and mammalian glycogen and plant starch synthesis and their regulation. In: Hecht SM (ed) *Bioorganic Chemistry: carbohydrates*, Oxford University Press, Oxford, pp 59-114
- Preiss J, Sivak MN (1998) Biochemistry, molecular biology and regulation of starch synthesis. *Genet Eng* 20:177-223
- Regierer B, Fernie A, Springer F, Perez-Melis A, Lisse A, Koehl K, Willmitze L, Geigenberger P, Kossmann J (2002) Starch content and yield increase as a result of altering adenylate pools in transgenic plants. *Nature Biotechnol* 20:1256-1260
- Rodermel SR, Abbott MS, Bogorad L (1988) Nuclear-organelle interactions: nuclear antisense gene inhibition ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase enzymes levels in transformed tobacco plants. *Cell* 55:673-681
- Raines CA (2003) The calvin cycle revisited. *Photosynth Res* 75: 1-10
- Sakulsingharoj C, Choi SB, Hwang SK, Edwards GE, Bork J, Meyer CR, Preiss J, Okita TW (2004) Engineering starch biosynthesis for increasing rice weight: the role of the cytoplasmic ADP-glucose pyrophosphorylase. *Plant Science* 167:1323-1333
- Sheehy JE, Mitchell PL, Hardy B eds (2008) "Charting new pathways to C4 rice" published by International Rice Research Institute
- Siegenthaler U, Sarmiento JL (1993) Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature* 365:119-125
- Slafer GA (ed.) 1994 Genetic improvement of field crops. University of Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. Marcel Dekker Inc. New York, USA
- Slattery CJ, Kavakli IH, Okita TW (2000) Engineering starch for increased quantity and quality. *Trends Plant Sci* 5:291-298
- Smidansky ED, Clancy M, Meyer FD, Lanning SP, Blake NK, Talbert LE, Giroux MJ (2002) Enhanced ADP-glucose pyrophosphorylase activity in wheat endosperm increases seed yield. *Proc Natl Acad Sci* 99:1724-1729
- Spreitzer RJ, Salvucci ME Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53, 449-475 (2002)
- Spreitzer RJ, Peddi SR, Satagopan S (2005) Phylogenetic engineering at an interface between large and small subunits imparts land-plant kinetic properties to algal Rubisco. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 102, 17225-17230
- Stitt M, Schulz ED, (1994) Does Rubisco control the rate of photosynthesis and plant growth? An exercise in molecular ecophysiology. *Plant Cell Environ* 17:465-487
- Stark DM, Timmerman KP, Barry GF, Preiss J, Kishore GM (1992) Role of ADP-glucose pyrophosphorylase in regulating starch levels in plant tissues. *Science* 258:287-292
- Stitt M, Quick WP, Schurr U, Schulz ED, Rodermel SR, Bogorad L (1991) Decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in transgenic tobacco transformed with antisense rbcS II. Flux control coefficients for photosynthesis in varying light, CO₂ and air humidity. *Planta* 183:555-566
- Sweetlove LJ, Burrell MM, Rees T (1996) Starch metabolism in tubers of transgenic potato (*Solanum tuberosum*) with increased ADP-glucose pyrophosphorylase. *Biochem J* 320:493-498
- Tiessen A, Hendriks J, Stitt M, Branscheid A, Gibon Y, Farré E, Geigenberger M (2002) Starch Synthesis in Potato Tubers Is Regulated by Post-Translational Redox Modification of ADP-Glucose Pyrophosphorylase. *Plant Cell* 14:2191-2213
- Tjaden J, Möhlmann T, Kampfenkel K, Henrichs G, Neuhaus HE (1998) Altered plastidic ATP/ADP-transporter activity influences potato tuber morphology, yield and composition of tuber starch. *Plant J* 16:531-540
- Whitney S, Baldet P, Hudson GS, Andrews TJ (2001) Form I

- rubiscos from non-green algae are expressed abundantly but not assembled in tobacco chloroplasts. *Plant J* 26:535-547
- Wang ZY, Chen XP, Wang JH, Liu TS, Liu Y, Wang GY (2007). Increasing maize seed weight by enhancing the cytoplasmic ADP-glucose pyrophosphorylase activity in transgenic maize plants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 88(1):83-92
- Watanabe N, Evans JR, Chow WS (1994) Changes in the photosynthetic properties of Australian wheat cultivars over the last century. *Aus J Plant Physiol* 21:169-183
- Woodrow IE, Berry JA (1988) Enzymatic regulation of photosynthetic CO₂ fixation in C3 plants *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 39:533-594
- Zhu X-G, de Sturler E, Long SP (2007) Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate; a numerical simulation using an evolutionary algorithm. *Plant Physiol* 145: 513-526
- Zhu X-G, Long SP, Ort DR (2010) Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Ann Rev Plant Biol* 61:235-261