

— 나무로 썩는 플라스틱 만든다 —

## 유전공학을 이용한 포플러에서 생분해성 플라스틱 생산

노은운 / 임업연구원, 임목육종부

### 1. 식물 유전공학의 기초는 조직배양

세포 및 조직배양 기술과 유전공학 기법을 응용하여 식물에 유용형질을 도입하려는 시도가 주요 농작물을 대상으로 이루어지고 있다. 세포 및 조직배양이란 식물의 세포나 조직을 배양하여 다시 완전한 식물체로 재생시키는 일련의 기술을 일컬으며 이렇게 세포나 조직에서 식물체가 재생되는 과정을 재분화라고 한다. 지금까지 이러한 조직배양기법은 학문적으로는 연이 멀어서 교배가 어려운 종간의 세포융합, 세포에서의 재분화, 체세포배 유도 등 발전이 거듭되었고 상업적으로는 경제적 가치가 높은 품종 등의 증식 방법개발등이 이루어졌다. 조직배양을 통한 식물의 상업적 대량 생산 체계는 난, 백합 등의 원예식물에서 이미 성공하여 정착되어 있으며 이들보다 경제성이 적어서 상업적 대량생산에 들어가지는 않았으

나 그 증식체계가 확립된 식물종은 이미 상당수에 이른다.

식물 유전공학은 이러한 세포 및 조직배양 기술에서 출발한다. 유전공학이란 넓은 의미로 볼 때는 서로 다른 개체간의 인위적인 유전자 교환이라고 할 수 있다. 이러한 유전자 교환은 인류가 이미 오래 전부터 우리 주위의 식물들을 대상으로 교배와 선발을 실시해 온 것과 크게 다를 바 없다. 유전공학이 종래의 육종기술과 다른 점을 굳이 부각시킨다면 종래의 육종방법의 경우 유전자교환은 교배가 되는 종간에만 이루어지는 반면 유전공학에서는 유전자 교환이 동물과 식물, 미생물과 식물간 아무런 구별없이 이루어질 수 있다는 점이다. 유전공학방법을 이용할 경우 또 하나의 특징은 교환되는 유전자의 수가 극히 제한적이라는 점이다. 최근에 우리 소나무 육종실험실에서 소나무와 해송을 교배하여 솔잎혹파리에 저항성이면서 생장이 우수한 특성을 지닌 잡종

을 만들어낸 바 있다. 이 경우 교배를 통한 유전자교환은 그 수가 헤아릴 수 없이 많게 되며 그에 따른 유전형질의 중간 이동은 그 수가 가공할 정도로 많게 된다. 그러한 유전자 이동이 눈에 잘 띄지 않는 이유는 소나무와 해송의 유전자 구성이 비교적 유사하기 때문일 것이다. 지금까지의 유전공학은 이와는 달리 특성의 유전자 하나 둘이 교환되는 정도로 볼 수 있다. 만일 솔잎혹파리 저항성에 관여되는 유전자가 해송에서 분리될 수 있다면 이것을 조작하여 소나무에 삽입시키면 단 한 개의 유전자 교환으로도 솔잎혹파리 내충성 소나무를 만들 수 있을 것이다.

## 2. 유전공학에는 유전자 운반체가 필요

최근 유전공학의 발달은 이러한 한 두 가지의 유전자를 이식시킴으로써 새로운 기능을 가진 생물체를 만들어내는 것을 어렵지 않은 일로 만들고 있다. 식물의 경우 현재 가장 효율적인 유전자 이식방법은 토양 세균인 아그로박테리아를 이용하는 것인데 그 이유는 이 박테리아가 자신이 가지고 있는 유전자를 식물에 이식시키는 버릇이 있기 때문이다. 이러한 세균을 유전자 운반체라 하며 식물 유전공학이란 따지고 보면 필요한 유전자를 이 운반체에 삽입시켜 식물에 전달하도록 하는 기술이라고 할 수 있다. 그러나 식물세포에 유전자를 이식하는데서 유전공학은 끝나지 않는다. 유전자가 삽입된 세포를 재분화시켜 온전한 식물체로 키워야하는

데 이때 세포및 조직배양의 기술이 없다면 식물 유전공학은 시험관안에서 끝나게 된다. 1993년 이 일련의 기술을 이용하여 Murai 박사의 연구진이 담배와 해바라기에 최초로 콩의 유전자를 주입하였다. 그 뒤를 따라서 수많은 학자들이 이 방법으로 외래 유전자가 도입된 식물을 성공적으로 육성하였으며 현재에도 토마토, 옥수수 등 많은 주요 농작물이 개발되고 있다.

## 3. PHB는 썩는 플라스틱

플라스틱은 인간이 만든 매우 유용한 산물의 하나지만 플라스틱의 난분해성은 환경오염을 낳기에 이르렀다. 그동안 많은 학자들이 이 플라스틱을 대체할 썩는 플라스틱의 개발하려고 노력하였다. 그들의 연구결과로 밝혀진 여러 가지 물질 중 폴리 하이드록시 뷰티레이트(PHB)는 일부의 미생물에 의하여 생산되는 생분해성 플라스틱으로 석유로부터 만들어진 플라스틱과 물리적 성질이 비슷함에도 불구하고 일단 폐기되면 쉽게 분해가 되는 것으로 알려져 있다. 이들 미생물을 이용하여 PHB가 여러 번 생산된 적이 있지만 생산단가가 너무 높아서 대량 생산하기에는 경제성이 매우 희박한 것으로 알려져 있다. 실제로 영국의 제네틱카라는 회사에서 이러한 방법으로 PHB를 시험 생산하다가 중단한 적도 있다. 미생물을 이용하여 PHB를 생산할 경우 생산가격은 미생물을 기르는 생물반응기가 필요하며 이에 따른 공장운영비와 원료로 공급해 주어야하는 포도당 가격이 대단

하여 이 경비들을 절반이하로 줄이더라도 경제성은 여전히 희박하다고 분석되고 있다.

이에 대한 대안으로 미국의 미시간주립대의 연구진은 유전공학을 이용한 식물에서의 PHB 생산방법을 제안하였다. 식물을 이용한다면 식물 자체의 탄소동화작용의 산물이 포도당이므로 원료문제가 해결되며 식물이 야외에서 자라게 될 경우 생산경비도 획기적으로 감소시킬 수 있으리라 전망되기 때문이었다. 실제로 이들은 미생물의 유전자를 애기장대라는 식물에 삽입시켜 이 식물이 PHB를 생산함을 증명한 바 있다. 그러나 이 식물은 시험관내에서 조작은 쉬우나 애기장대라는 이름이 말하듯이 매우 작은 식물이어서 건중량이 작고 매년 종자가 열리므로 계몽유지가 대단히 어려워 실용적인 측면은 거의 없는 것으로 알려져 있다. 따라서 최근에는 감자나 콩같이 생산성이 높은 식물을 대상으로 PHB 생산유전자들을 이식시키려는 연구가 진행되고 있다.

#### 4. 포플러는 유전공학의 모델 시스템

포플러는 맹아에서의 발생력이 탁월하기도 하지만 시험관내에서도 세포재생능력이 대단한 것으로 이미 정평이 나있다. 이렇게 맹아력이 강한 식물들이 시험관내에서도 반응이 대단한 것은 어찌면 당연한 현상인지도 모른다. 따라서 목본식물을 대상으로 유전공학을 한다는 학자들이 대부분 포플러를 재료로 쓰고 있다. 지금까지 몇 가지의 유

전자들이 포플러 세포에 도입되었지만 대부분 유전자 이식이 가능하다는 것을 증명하는 정도의 연구가 이루어졌다. 또한 농작물에는 유용할 수도 있을 병충해 저항성 유전자, 제초제 저항성 유전자들이 이용되기도 하였지만 이들 유전자가 모두 농작물을 위해서 개발된 것으로서 현재까지는 임목에 이식되어 그 경제성을 논할 단계는 아닌 것으로 생각된다. 그러나 그 동안의 꾸준한 연구와 투자로 임목, 특히 포플러는 유전공학의 재료로서 상당히 경쟁력이 있는 재료임이 증명되고 있다. 이미 미국과 유럽에서 포플러를 이용한 유전공학 연구가 일반 농작물 못지 않게 진행되고 있다. 이중 현재 가장 관심을 끄는 분야는 리그닌 합성유전자를 억제시킴으로써 재질을 부드럽게하고 펄프생산을 더 용이하게 하는 연구라고 할 수 있다. 우리 실험실에서는 포플러를 대상으로 유전공학을 이용하여 생분해성 플라스틱을 만드는 연구를 하고 있다.

#### 5. 현사시에서 PHB 생산

따라서 우리는 생장이 월등한 포플러를 이용하여 PHB를 생산하고자 이 연구를 시작하게 되었다. 세포배양시 재분화가 잘 된다는 것 외에도 포플러는 다음과 같은 점에서 유용물질 생산에 유리한 것으로 생각된다. 포플러는 삼목 등의 방법으로 무성증식이 가능하며, 맹아 갱신력이 탁월하여 한번 조성하면 매년 수확이 가능하고, 짧은 윤벌기를 가진다는 장점이 있다. 이곳의 포플러 육종연구 팀의 현사시 생체중량

생산 시험 결과에 의하면 매년 1정보당 14톤에 이르는 건중량을 생산할 수 있다한다. 이러한 여러 특징들로 보아 포플러는 유전공학에 의하여 경제적인 유용물결 생산에 모델 시스템으로서 적합하다고 생각된다.

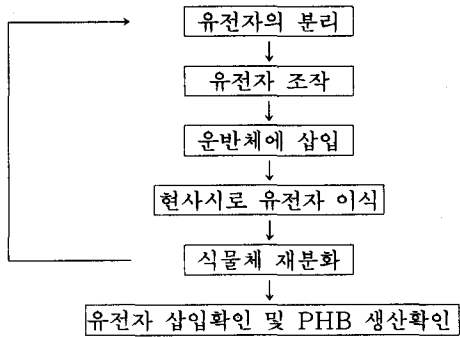
그러나 보통 포플러는 PHB를 생산할 수 없다. 그 이유는 이 물질을 생산하기 위한 유전자가 선천적으로 없기 때문이다. 이것은 포플러에서 무궁화꽃이 필 수 없는 것과 같은 이유 때문이다. 무궁화꽃이 피는데 관련된 유전자들은 아직 다 밝혀져 있지 않다. 그러나 미생물에서 PHB를 생산하는데 관련된 유전자들은 다행스럽게 다 알려져 있다. 미생물과 식물은 다 같이 생물체이기 때문에 살아가는데 기본적인 대사작용은 같은 부분이 많다. 사람이나 식물, 미생물 모두 포도당이 생명의 가장 큰 에너지원이 되고 있다. 이 포도당이란 원래 식물의 광합성에 의하여 만들어지며 이것을 동물이나 미생물이 가장 중요한 양분으로 쓰고 있다. 따라서 PHB의 원료물질은 거슬러 올라가면 생체내에서 포도당에서 출발한다. 미생물을 이용하여 PHB를 만드는 일이 경제성이 희박한 이유가 값비싼 포도당을 공급해야하는 이유 때문이라고 볼 수 있다. 식물은 광합성으로 이 포도당을 스스로 만들어낸다. 이 만들어진 포도당을 PHB로 전환시키는 유전자가 없을 따름이다. 따라서 우리가 할 수 있는 일은 이 미생물의 유전자중 PHB를 생산하게 하는 유전자를 골라서 포플러에 이식시키는 작업이다.

PHB 생산에 관련된 유전자중 식물

에는 없는 유전자가 두 가지가 알려져 있다. 먼저 acetoacetyl CoA reductase를 만드는 유전자로서 acetoacetyl CoA를 3-hydroxybutyryl CoA로 전환시키는 기능을 가지며 Phb-B 유전자로 불리운다. 그 다음은 Phb-B 유전자에 의하여 만들어진 3-hydroxybutyryl CoA를 PHB로 전환시키는 효소 PHB synthase를 만드는 phb-C 유전자가 있다. 그러나 보통 phb-B 유전자의 기질이되는 acetoacetyl coA가 식물 세포내에 많지 않기 때문에 이 물질의 원료가 되는 acetyl CoA를 acetoacetyl CoA로 만드는 phb-A 유전자가 더 삽입시켜야 한다.

## 6. 외래 유전자가 식물에서 발현되려면

유전자는 DNA라는 물질로 되어 있다. 유전공학에서 유전자를 조작한다는 말은 DNA라는 물질을 조작한다는 것을 의미한다. 미생물의 유전자나 식물의 유전자가 모두 같은 DNA로 구성되어 있기 때문에 화학적으로 분리가 가능하고 서로 치환이 가능하다. 비록 미생물과 식물의 DNA가 구조는 같더라도 유전자를 해독하는 스위치는 다르게 되어 있다. 미생물의 유전자가 식물에서 제대로 발현되려면 식물의 유전자해독방식을 따라야 한다. 유전자조작의 제일 중요한 부분이 이 외래 유전자에 식물의 스위치를 달아 주는 일이다. 이 복잡한 과정은 다음 그림과 같이 단순화시킬 수 있다.



일단 세포에 유전자가 삽입되면 유전자가 삽입된 세포만이 시험관내에서 자라게 하고 주위의 다른 세포의 성장을 억제시키는 장치가 성공의 필수적인 요소이다. 이를 위하여 유전자운반체에는 항상 항생제 저항성 유전자같은 선발표지 유전자가 따라 다닌다. 대표적인 유전자로서 가나마이신 저항성 유전자와 하이그로마이신 저항성 유전자 등이 있는데 이 유전자가 들어있는 유전자 운반체를 사용할 경우 식물배양 배지에 이 항생제들을 첨가하여 일반 세포가 성장하는 것을 방지할 수 있다. 유전자 삽입된 세포가 성장하여 분열을 계속하면 이들을 줄기 유도배지에 옮겨 줌으로써 세포덩어리에서 비로소 포플러의 줄기가 발생된다. 발생된 줄기는 IAA 나 IBA등의 옥신처리에 의하여 뿌리를 발생시킨 후 화분에 이식된다.

화분을 온실에서 4-5주간 거치시켜 적응시키면 5-6월에는 이 식물들은 포지이식이 가능해질 정도로 튼튼해진다. PHB 추출은 잎이나 줄기를 건조시킨 후 가루가 되도록 분쇄하여 클로로폼같은 유기용매에 넣게되면 PHB 성분이 유기용매에 모두 녹아 들어가서 찌꺼기

를 걸러낸 후 증발시키면 최종 산물로 PHB가 남는다.

## 7. 지금까지의 연구결과와 전망

현재 유전자 삽입된 현사시 120 클론이 포지에서 생육중이며 이들 중 PHB 함량이 최대인 것이 건중량대비 약 0.85%에 이르는 것으로 나타났다. 이 수치는 최근 감자 등을 대상으로 건중량의 1.4%까지 올린 미국의 연구팀의 결과와 비슷한 수준으로 생각된다. 그러나 산업화를 위한 최소함량은 건중량의 5%정도로 예측되고 있는바 생체내 PHB함량을 증가시키는 연구가 더 진행되어야 한다. PHB 함량증가는 유전자의 발현량을 증대시킴으로써 가능할 것으로 예측되고 있는데 이를 위해서는 더욱 강력한 유전자 스위치나 미생물 유전자를 식물의 유전자와 더욱 가깝게 변환시키는 작업이 요구되고 있다.

## 8. 토 의

환경오염을 예방할 수 있는 생분해성 플라스틱(PHB)은 매우 중요한 자원이라고 할 수 있다. 이것의 상업적인 생산은 미생물의 생분해성 플라스틱 유전자를 식물에 도입함으로써 가능할 것으로 생각된다. 이때 유망한 대상 식물은 생장이 왕성하고 재분화력이 왕성한 포플러라고 할 수 있다. 앞으로 외래 유전자의 발현율을 안정되게 더욱 높인다면 PHB 뿐만 아니라 다른 물질의 생산원으로써도 좋은 시스템이 될 것이다.