

# 속살 드러내는 신비의 사포닌

- 인삼사포닌 생합성의 기능유전체 연구(下) -



최동욱 · 전남대학교 교수

- 1. 서론
- 2. 인삼사포닌의 생합성
- 3. 인삼사포닌 생합성의 기능 유전체 연구
- 4. 결론

### 3. 인삼사포닌 생합성의 기능 유전체 연구

(1) 인삼사포닌 생산변이 모상군 line선별

#### (2) 인삼유전자의 대량발굴

ESTs(expression sequence tags)는 약용식물처럼 기초적인 유전학적 연구가 되어 있지 않는 식물의 유전자원 확보에 가장 경제적이고 효율적인 방법으로 사용되고 있다. 따라서 지금까지 다양한 식물체로부터 많은 ESTs가 생성되고 있다. 우리는 인삼사포닌 생합성 경로를 이해하고 관련 유전자들을 확보하기 위해 9개의 인삼 cDNA library를 제작하고 이들 cDNA library를 이용하여 총 2만 1,155개의 ESTs를 생산하였다. 생산된 인삼 ESTs는 약 9,600개의 단일 유

전자들을 포함한다.

생성된 인삼 ESTs의 약 25%(no hit)는 지금까지 보고된 유전자와는 유사성이 없으며, 약 57%의 인삼 ESTs(known)만이 지금까지 보고된 유전자와 높은 유사성을 갖고 있었다(그림 4-3). 또 총 인삼 ESTs중 약 15.8%가 이차대사물 생합성을 포함한 물질대사에 관련된 것으로 분석되었다.

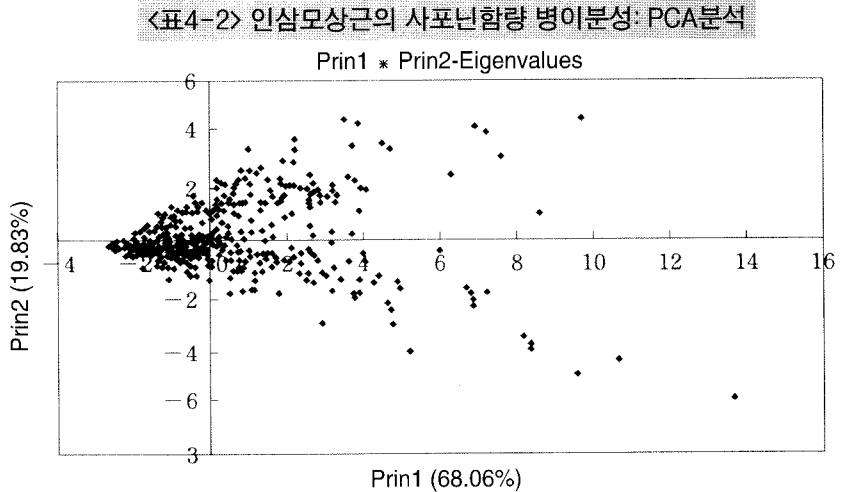
비록 인삼사포닌 aglycone 합성에 관계하는 OSC(DS)는 밝혀지지 않았지만 식물로부터 세 가지의 다른 OSC(CS, AS, LS)가 분리되었는데(표 4-2), DS는 이들 유전자와 높은 유사성을 가질 것으로 예상된다. 또 전체 genome 염기서열이 밝혀진 애기장대의 경우 OSC 유전자는 최소한 13개로 구성되어 있으며, 다른 식물에서도 이들 유전자는

많은 유사유전자로 구성되어 있을 것으로 판단된다. 우리는 지금까지 보고된 OSC와의 아미노산 서열 유사성 조사를 통해 4개의 인삼 OSC 유전자를 선별하였다. 4개의 인삼 OSC중 2개는 보고된 인삼 cycloartenol synthase 및  $\beta$ -amyrin synthase이며 나머지 2개는 새로운 OSC로 판단된다.

인삼사포닌 aglycone의 변형을 통해 최종적으로 다양한 사포닌형성에 관계할 것으로 예측되는 cytochrome P450 및 glycosyltransferase 유전자 역시 식물체에 매우 큰 유전자집단으로 구성되어 있다. 이들 유전자는 triterpene aglycon뿐만 아니라 다양한 기질의 변형에 관계하고 있다. 우리는 많은 인삼 cytochrome P450 및 glycosyltransferase 유전자 중에서 triterpene이나 식물 이차대사물을 기질로 사용할 것으로 예측되는 cytochrome P450 및 glycosyltransferase 유전자들을 선별하였다. 뿐만 아니라 아직까지 보고되지 않은 많은 인삼의 특이적 유전자들을 확보하였다.

### (3) 인삼 cDNA chip

초고속 DNA 염기서열 분석기술의 발달과 함께 전체 genome 염기서열은 물론 대량의 ESTs 확보가 가능해지면서, 이제 DNA chip을



이용한 microarray방법은 기능유전체 연구에서 가장 중요한 기술로 사용되고 있다. DNA chip의 이용은 수천에서 수만 개의 유전자의 발현패턴 분석을 동시적으로 가능하게 함으로써 특정 조직이나 환경 조건에서 발현되는 유전자들을 대량으로 선별할 수 있다.

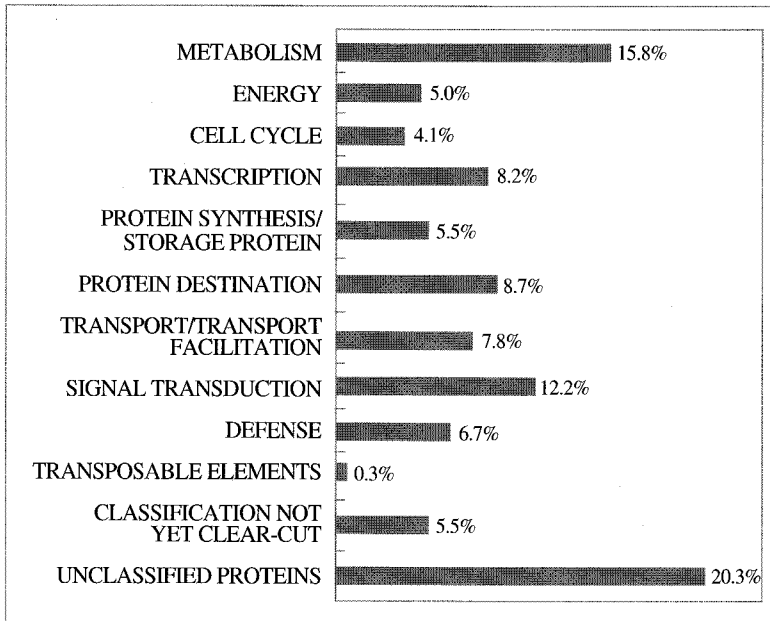
인삼사포닌 생합성에 관련된 유전자를 확보하기 위한 또 다른 방법으로 우리는 cDNA chip을 이용하였다. 확보된 인삼 ESTs 분석을 통해 약 5,000개의 단일 유전자가 포함된 6.5K 인삼 cDNA chip을 제작하고 제작된 cDNA chip을 이용하여 ginsenoside를 대량으로 생산하는 인삼모상근 line 및 ginsenoside 생산변이 모상근 line을 대상으로 유전자 발현을 조사하였다. 약 100여개의 유전자가 이들

선별 모상근 line에서 대조구로 사용한 모상근에서 보다 발현이 증가됨을 보였다(<그림 4-4>).

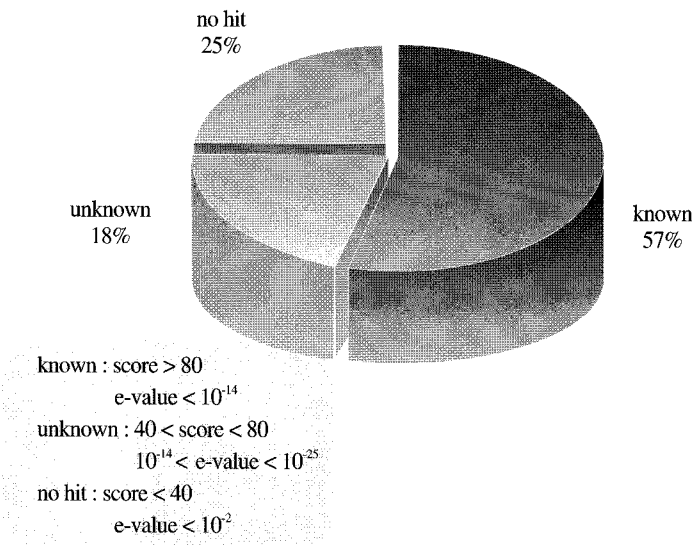
또 지금까지의 연구보고에 의하면 식물호르몬 중 MeJA 처리시 사포닌 생산이 증가되는 것으로 알려지고 있다. 따라서 우리는 인삼모상근을 이용하여 MeJA 처리시간에 따른 유전자 발현패턴을 조사하였다. 실험결과 300개 이상의 유전자가 MeJA 처리에 의해 증가되는 양상을 보였다. 발현이 증가된 유전자는 OSC 유전자는 물론 cytochrome P450 그리고 glycosyltransferase 및 특정 transcription factor들을 포함하고 있다. 특히 우리는 cDNA chip을 이용한 gene expression profiling 분석을 통해 인삼사포닌의 합성이 증가된 조건에서 함께

〈그림 4-3〉 인삼 ESTs의 기능별 분류, 인삼 ESTs의 분석

(A) 인삼 ESTs의 기능별 분류



(B) 인삼 ESTs의 분석



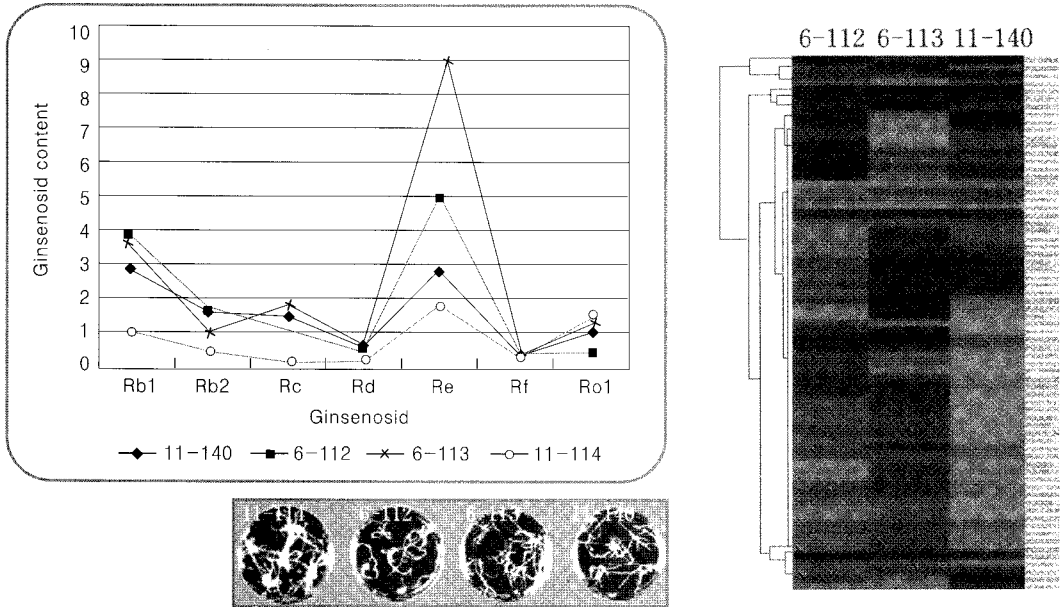
발현이 증가되는 transcription factor들은 확보할 수 있었다. 앞으로 이들 유전자에 대한 연구는 단순한 인삼사포닌 생합성 경로의 규명뿐만 아니라 조절기작을 이해하는데 큰 역할을 할 것으로 기대하고 있다. 지금까지 공통기질인 2,3-oxidsqualene으로부터 sterol이 만들어지는 경로에 대해서는 많은 연구가 수행되어 왔지만, 같은 기질로부터 sterol이 아닌 인삼사포닌처럼 다른 이차대사물의 생합성 경로의 규명 및 조절에 대한 연구는 많지 않기 때문이다.

(4) 선별유전자의 기능연구

지금까지 OSC의 기능연구를 위해서는 yeast knock out(KO) 돌연변이시스템이 가장 많이 사용되고 있다.

yeast의 경우 2,3-oxidsqualene를 기질로 사용하여 sterol합성을 위해 요구되는 lanosterol을 합성하는데, 이 첫 단계에 관제하는 유전자가 lanosterol synthase(LS)이다(〈표 4-1〉). LS의 기능이 제거된 yeast는 ergosterol이 첨가되지 않는 배지에서는 성장할 수 없다. 이 yeast KO 돌연변이체에 식물 OSC 유전자를 도입하면 yeast는 ergosterol이 첨가되지 않는 배지에서는 성장할 수 있으며, 또 도입된 유전자산물을 세포내에 축적하

<그림 4-4> 인삼 cDNA chip을 이용한 선별변이 모상근의 gene expression profiling



게 된다. 따라서 축적된 유전자산물은 HPLC등의 분석기기를 이용하여 분석함으로써 최종적으로 선별한 유전자의 기능을 확인할 수 있다.

인삼사포닌 생합성의 최종단계에 관계하는 glycosyltransferase의 기능분석을 위한 연구는 실험관 내에서 생화학적 반응실험과 함께 인삼사포닌의 생산에 변이를 보이는 인삼모상근 line을 이용하여 연구를 진행하고 있다.

#### 4. 결론

식물에 존재하는 다양한 사포닌의 생합성 기작에 관해서는 식물의 생리학적 관점에서는 물론 산업적

중요성 때문에 오랫동안 많은 사람들이 관심을 가져왔다. 특히 인삼사포닌은 다양한 약리효과가 밝혀지면서 건강보조식품은 물론 의약품으로의 개발을 위해 많은 연구가 진행되고 있다.

인삼사포닌의 생합성을 위해서는 사포닌의 뼈대가 되는 triterpene aglycone에 glycosyltransferase에 의한 다양한 당결합은 물론 aglycone 자체의 변형도 수반된다.

그러나 아직 triterpene aglycone 합성에 관계할 것으로 생각되는 mammarenediol synthase(DS)는 물론 aglycone의 변형에 관계되는 유전자들 역시 밝혀지지 않고 있다. 최근 다양한 식물 및 효모의 돌

연변이체를 이용하여 다양한 OSC 유전자들을 분리하는 연구가 진행되고 있으며, 또 chimeric OSC 유전자 조합을 이용하여 효소의 활성 및 OSC의 기질과 산물특이성에 대한 연구가 진행되고 있다.

우리는 사포닌 생합성에 변이를 보이는 다양한 인삼모상근들을 기본재료로 사용하여 사포닌 생합성 관련 유전자들 확보하기 위한 인삼 기능유전체 연구를 수행하고 있다. 본 연구가 성공적으로 수행되면 확보된 사포닌 생합성 관련 유전자들은 인삼사포닌의 대량생산 및 특정 사포닌의 생산 등에 사용되어 앞으로 인삼사포닌을 이용한 산업에 크게 기여할 것으로 기대한다. ●