

## IN THIS SECTION:

- [Plant Secondary Metabolite & Plant Cell Culture](#)
- Metabolomics
- Genomics
- Proteomics

## Plant Secondary Metabolite & Plant Cell Culture

식물은 유용 물질의 근원으로서 인류 생활에 많은 영향을 주었으며 최근 약 20여년 동안은 세포 배양 기술과 유전공학 등 첨단기술의 발전에 힘입어 식물의 산업적 응용에 보다 많은 관심이 집중되고 있다. 식물이 생산하는 유용 물질들은 대부분 alkaloid, steroid, terpenoid, phenolics와 같은 이차 대사 산물로서 의약품, 염료, 색소, 향료, 식품 첨가제 등으로 이용되고 있다. 따라서, 유기 합성 기술의 발전에 의해 많은 화합물이 합성되었음에도 불구하고 식물은 여전히 신물질의 공급원으로서 각광 받고 있다.

식물이차대사산물의 특징을 다음과 같이 나타낼 수 있다.

- Basic life process(primary pathway)에 필요치 않은 물질
- 대체적으로 식물 외부의 환경, 예를 들면 pathogen, organism, animal 등의 공격이나 접근에 대항하기 위해 식물이 생산하는 물질
- 식물과 외부 환경 사이의 communication을 위한 물질
- 움직일 수 없는 식물이 disease나 virus 등에 대항하는 작용뿐만 아니라 pollinator를 부르기 위한 물질도 포함됨.
- 미국 조제처방약의 25%를 차지할 정도로 약리작용이 매우 각광을 받는 화합물
- 이들 중 flavor나 fragrance의 시장은 1조원에 이름.



현재 이들 생화학물질의 생산은 식물을 재배하고 추출, 정제함으로써 이루어지고 있는데 이런 재배 공정은 지리적, 기후적, 정책적 영향을 받으며 재배환경의 변화에도 크게 영향을 받는다는 단점이 있다. 특히 식물재배로 추출할 수 있는 생산량이 매우 적으며 고부가가치 물질로 인정받고 있는 의약품의 경우, 재배에 지역적 한계가 있는 것으로 알려져 있다. 유용물질 생산은 식물세포 배양공학 기술뿐만 아니라 미생물, 동물세포를 이용한 배양공학 기술을 통해서도 달성될 수 있지만 식물 세포 배양기술은 이들과 대별되는 뚜렷한 장점을 지니고 있다. 항암제 혹은 치료제로 사용되는 대부분의 식물유래 유용물질들은 여러 단계의 생합성경로를 거쳐 복잡한 구조로 생성되기 때문에 화학적인 합성이나 미생물의 대량생산체계를 이용하기 힘들어 대부분의 고분자 유기화합물이 식물세포배양 기술을 통해서 대량생산이 시도되고 있다. 최근 들어서는 동물세포배양을 통해서 생산되던 고가의 유전자 재조합 단백질을 식물세포배양을 이용해 생산하려는 시도가 진행되는 데, 동물세포 배양에서 문제가 되던 고가의 배지나 분리 정제공정의 문제점을 극복할 수 있는 장점을 지니고 있다. 따라서, 식물세포, 기관 및 조직을 *in vitro*에서 대

량 배양하고 유용식물성분을 계획적으로 생산하여 안정적인 공급을 위한 연구가 세계 각국의 연구기관, 기업체에서 활발히 진행되고 있다. 더욱이 genomics, proteomics, transcriptomics, metabolomics 등의 최근 biotechnology 기술의 눈부신 발전은 식물세포배양에 의한 유용물질 생산 가능성을 보다 구체화하고 있다.

그렇다면 식물이차대사산물을 화학구조에 따라 분류해 보면 다음과 같다.

분 류	주 요 물 질
Alkaloids	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Benzophenanthridine: sanguinarine</li> <li>● Benzyisoquinoline: berbamine, aromaline</li> <li>● Ipecac: emetine, cephaelin</li> <li>● Indole Alkalids: vincristine, vinblastine, ajmalicine, serpentine</li> <li>● Morphinan: morphine, codeine</li> <li>● Protoberberine: berberine</li> <li>● Tropane Alkaloids: atropine, scopolamine</li> <li>● Quinoline: quinine</li> </ul>
Phenolics	<ul style="list-style-type: none"> <li>● rosmarinic acid, capsaicin</li> </ul>
Polyacetylenes	-
Quinone	<ul style="list-style-type: none"> <li>● shikonin</li> </ul>
Steroids	<ul style="list-style-type: none"> <li>● digitoxin(digoxin)</li> <li>● saponin</li> <li>● diosgenin</li> </ul>
Terpenoids	<ul style="list-style-type: none"> <li>● components of essential oils</li> <li>● paclitaxel</li> </ul>

Business Communications Company(BCC)사는 1997년 식물 유래 의약품의 세계시장은 226억 달러였으며 이 가운데 반 정도는 단일 처방 제품으로 판매되고 있고 나머지는 한방이나 허브 치료 요법으로 판매되고 있는 분석했다. BCC는 이 시장이 연 평균 6.3%의 성장을 보여 2002년에는 307억 달러 규모의 시장으로 성장할 것이라고 보고 있다. 분야별로는 천연 식물 추출 의약품 가운데 가장 큰 시장은 taxol(paclitaxel)이 포함된 terpenes과 glycosides분야 시장이다. 그러나 단일 처방전 의약품 분야에서는 terpenes시장 다음으로 camptothecin을 포함하고 있는 alkaloid 시장이 크다. alkaloid시장 규모는 1997년 36억 달러였으며 연간 2.4%의 성장으로 보여 2002년에는 41억 달러에 이를 전망이다.

현재 가장 중요한 항암제로 인정받고 있는 Paclitaxel은 1962년 USDA와 NCI가 식물에 대한 공동 screening사업을 개시한 이래 1964년 주목 (*Taxus brevifolia*) 추출물이 KB Cell line에 cytotoxic효과를 보이면서 연구와 상업화가 본격적으로 진행되

어 현재까지 이르고 있다. Paclitaxel에 관한 연구를 주도하던 NCI는 1989년 Cooperative Research and Development Agreement (CRADA)를 요청하고 그 파트너로 Bristol-Myers Squibb (BMS)을 선정하였으며 BMS는 1992년 FDA에 New Drug



Application(NDA)을 하고 6개월후 난소암에 대한 처방의 허가를 받은 후 1993년 처음으로 taxol이라는 상품명으로 paclitaxel이 시판되었다. 또한 이와 함께 BMS에서는 10-deacetyl baccatin III로 부터 paclitaxel을 반합성하는 방법을 이용 Supplemental NDA(SNDA) 를 신청 1994년 FDA로부터 metastatic breast cancer에 대한 치료를 허가 받았다. 미국 BMS사에는 paclitaxel을 천연 추출법으로 생산, 시판하여 왔으나 주목(*Taxus brevifolia*)을 보호해야한다는 환경 보호

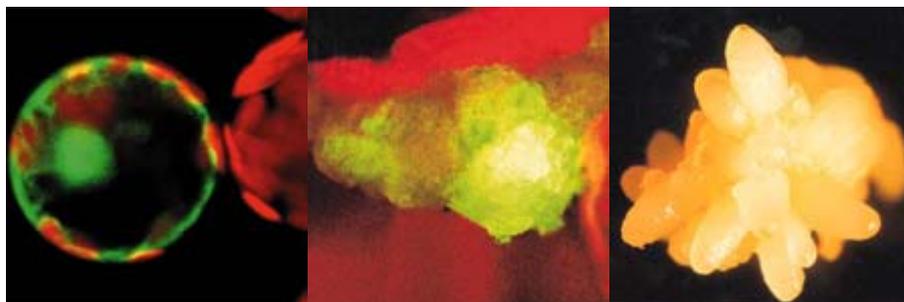
론자들의 주장 및 장기적인 측면에서 경제적으로 타당하지 못하다는 이유로 1994년에 그 생산방법을 반합성법으로 바꾸게되었는데, 반합성법은 재생가능한 자원인 주목의 앞에서 Paclitaxel의 전구체인 10-deacetyl baccatin III 을 추출한 후 화학적 합성법으로 side chain 을 합성하여 paclitaxel을 생산해내는 방법이다. 그러나 전구체를 천연 추출해야한다는 점과 화학합성을 거쳐야 한다는 점이 경제적으로 문제점이 될 수 있다. 주목을 직접 재배하여 이로부터 Paclitaxel을 얻고자 하는 시도는 주목의 생장이 매우 느리기 때문에 시간소모적이고 한정적인 대안이라고 할 수 있다. 장기적이고 근본적으로 문제를 해결할 수 있는 방법으로 각광을 받고 있는 식물세포배양법은 미국의 Phyton Catalytic사와 국내 삼양제넥스에서 개발중인 방법으로, 반응기내에서 세포를 생육시킨 후 Paclitaxel을 생산함으로써 자연파괴문제를 야기하지 않으면서 안정적으로 Paclitaxel을 생산할 수 있다는 장점이 있다. 일반적으로는 낮은 Paclitaxel 생산 수율 및 scale up 에 문제가 있다고 생각되어 왔으나, 최근 발효기술의 발전으로 Phyton Catalytic사와 삼양 제넥스 모두 약 100mg/L를 상회하는 생산성을 보인다고 보고하였다. 최근 들어 Paclitaxel의 시장이 \$27억정도로 신장되어 현재와 같은 천연추출법으로는 그 수요를 감당하기 어렵게 되었다. 이에 BMS는 Phyton Catalytic사의 Plant Cell Fermentation(PCF) Technology에 1995년 2500만불을 투자하여 이 기술 관련 특허권에 대한 전용실시권을 확보하였으며 2002년에도 수백만불(multimillion dollar; <http://www.bms.com>) 규모의 새로운 계약을 통해 이에 대한 전용실시권 확보를 마무리한 것으로 알려져 있다.

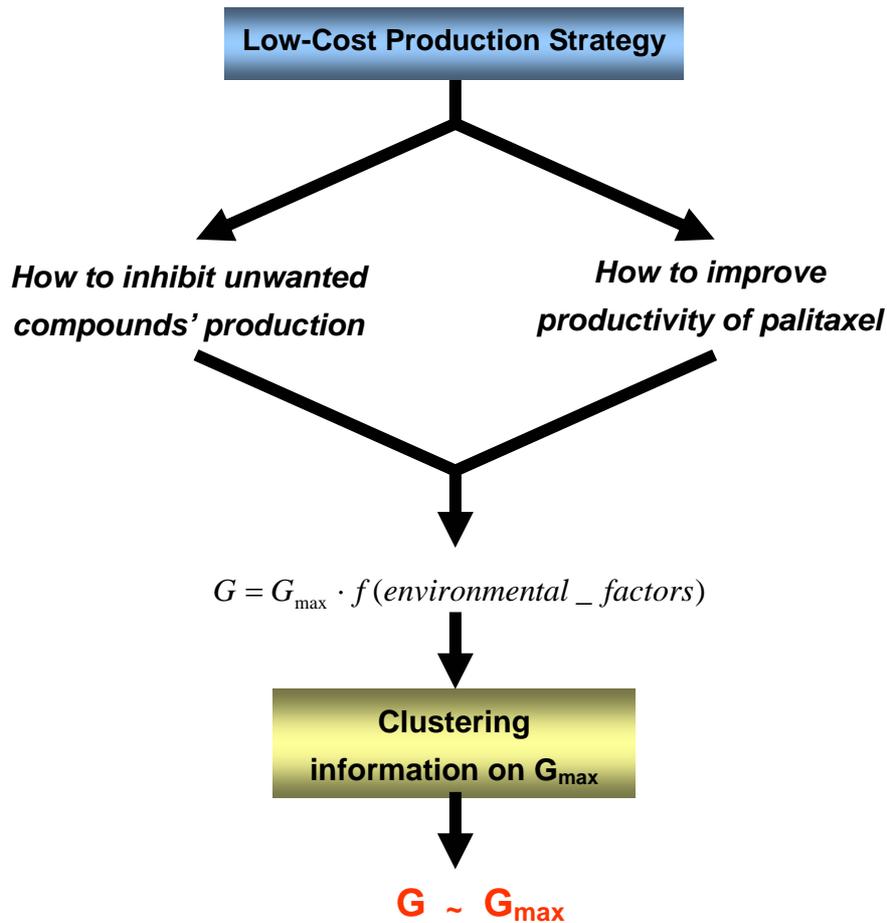
이와 같은 식물세포배양공학을 이용한 유용물질 생산의 산업화는 1980년 일본 Mitsui 석유화학이 shikonin을 생산한 이래 지난 20년간 다양하게 추진되어 왔으나 실제 대량생산 상업화에 성공한 예는 paclitaxel을 비롯하여 전 세계적으로 약 5건 정도에 그칠만큼 소수인 것이 사실이다. 식물세포배양기술이 내재하고 있는 수많은 잇점에도 불구하고 이 기술을 이용한 산업화가 활성화되지 못한 원인은

‘production instability’에 기인한다고 할 수 있다. 식물세포배양의 난점을 정리해 보면 다음과 같다.

- Low yield
- Higher instability
- Lower growth rate
- Higher sensitivity to shear
- Lower oxygen demand
- Formation of aggregates
- Differentiation
- Reduced rate of excretion of secondary metabolites
- 

우수 세포주 선별, 배지조성의 최적화, 적절한 elicitor의 선택 및 적용 등으로 대표되는 전통적인 방법(Classical Approaches)은 일정 수준 이상의 생산성을 가능하게 해주나 예상치 못한 외부적인 요인이나 gene level에서의 규명하지 못한 변이에 의해 생산성이 급감하는 경우 이에 대한 해결능력의 부재가 문제점으로 지적되어 왔다. 실제로 이와 같은 production instability로 인해 생산체제 내에서 품질관리(QC: Quality control)와 가격경쟁력 확보가 매우 어렵게 된다. 이는 산업화를 도모하려는 여러가지 시도에 치명적인 문제점을 안기게 되어 대상유용물질의 상업성은 시장에서 충분히 확보가 되었음에도 불구하고 산업화 자체가 백지화되는 사태가 반복되어 왔다.





그만큼 production instability의 문제점은 식물세포배양공학 최대의 화두라 할 수 있어 이를 해결하고자 하는 노력들이 그동안 수없이 시도되어 왔으나 가시적인 성과를 도출하지 못하여왔다. Paclitaxel의 경우도 식물세포배양공학을 이용하고 있는 미국의 Phyton과 삼양제넥스 모두 식물세포의 production instability의 문제점은 근본적으로 해결하지 못하였으며 상기한 바와 같이 외부적인 요인이나 epigenetic instability에 의해 production stability가 유지되지 못하는 경우에 대한 근본적인 대책이 전무한 실정이다.

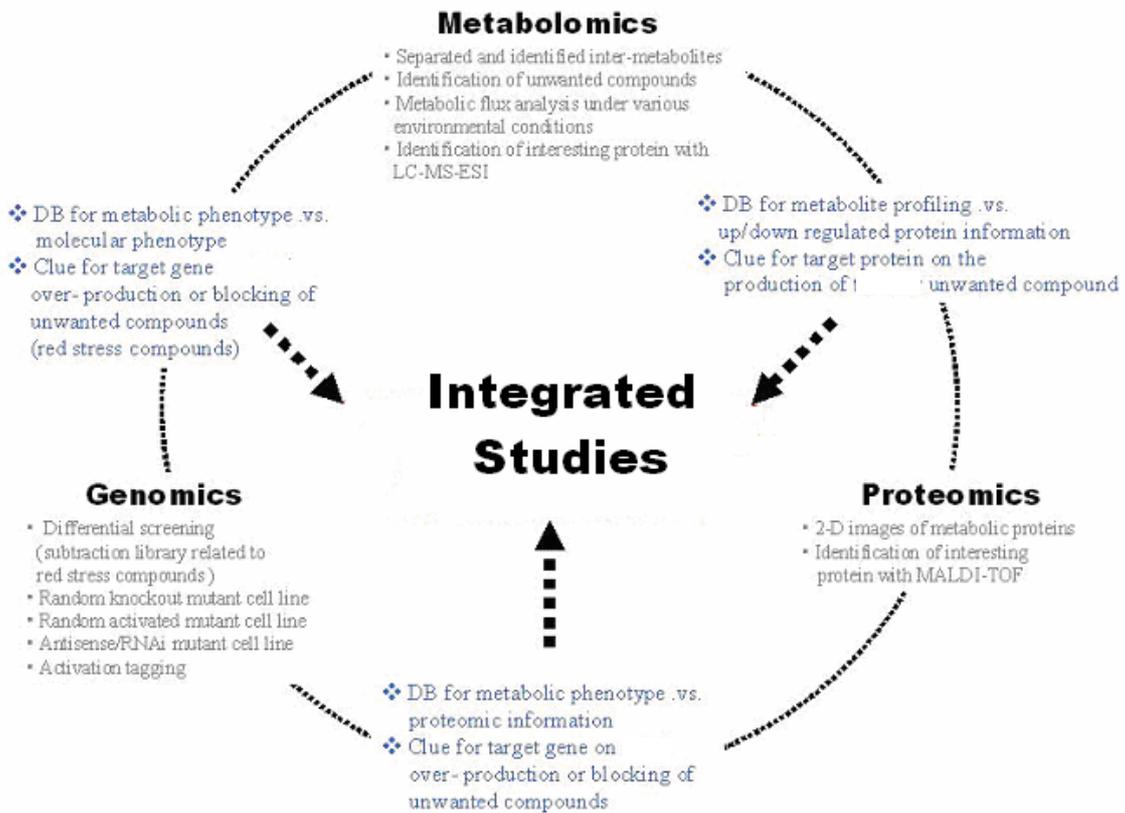
이를 대처하기 위해 back-up cell line을 유지하거나 cryopreservation을 이용하는 것이 유일무이한 대처방안인 것 또한 사실이다. Sanguinarine을 세포배양기술로 생산, 판매했었던 미국 Vipont사의 cell line이 수년 후 생산성이 전혀 없는 무의미한 cell line으로 전락했었던 과거사를 굳이 들추어내지 않더라도 production stability를 유지하지 않고서는 산업화를 도모하기가 불가능하다. 이러한 식물세포배양기술의 난점을 해결할 수 있는 기초 정보를 대규모로 축적하고 이를 통해 문제점 해결의 key clue를 도출하여 실제 공정시스템에서의 생산성의 증가 및 production instability문제점을 해결할 필요가 있다. 식물세포배양기술의 중요성이 날로 증가해가고 있어 production instability가 근본적으로 해결되는 경우 이에 대

한 과급효과는 생물산업계 전반에 걸쳐 커다란 구조변혁에까지 미칠 것으로 판단된다.

위 그림의 식에 대해 부가적인 설명을 하면 다음과 같다.

$$G = G_{\max} \times f(\text{environmental\_factors})$$

위의 식에서  $G$ 는 세포주의 현재 생산성,  $G_{\max}$ 는 세포주의 최대 생산성을 나타내고,  $f(\text{environmental factors})$ 는 외부환경인자를 나타내는 함수이다. 이처럼 현재생산성을 상향조절하기 위해 지금까지의 전통적인 접근방법은 외부환경인자만을 조절하여 왔으나 최적화된 여러 가지 환경인자들의  $f(\text{environmental factors})$ 를 상수로 보고  $G_{\max}$ 에 대한 여러 가지 정보를 축적, 분석하여  $G \cong G_{\max}$ 에 근접할 수 있는 방안을 도출하고자 하는 데에 그 핵심이 있다. 부연설명하자면 전체 공정의 stability를 저해하는 근본적 요소들을 파악하고 이를 개선하는 방안을 모색하며 target compound 생산으로의 metabolic flux를 극대화할 수 있는 방법을 도출하고자 함이다.



production instability의 원인의 규명은 metabolite profiling이나 혹은 2-D electrophoresis와 같은 기술들이 단편적으로 응용되어서는 관련 정보를 수집하는 정도에서 더 이상의 발전을 기대하기 어려울 것으로 판단된다. 따라서, 보다 종합

적이고 체계적인 정보의 수집과 이에 대한 분석이 절실히 필요하다. 따라서, plant cell culture에서 가장 문제가 되는 부정적인 현상들을 우선적으로 선별하여 differential screening과 comparative study를 병행해야 할 것으로 예상된다. Metabolomics part에서는 가장 중요한 것이 세포 내부나 외부의 metabolite들을 shadowing없이 정량 및 정성분석을 할 수 있는 시스템을 갖춰야 한다. 특히, biosynthetic pathway상의 수많은 inter-metabolite들을 정성분석을 하지 못하면 comparative study가 매우 어려워질 것으로 예상할 수 있다. 외부의 조건이 변했을 경우 세포들이 생산하는 metabolite profiling의 변이를 통해 1차적인 flux change information을 수집해야 할 것이다. 이러한 정보들은 같은 세포의 proteome change를 통해 그 변이의 근원지를 추적해 들어가게 된다. target gene candidate pool을 이용하여 이들과 연동되어 up/down regulation되는 target gene의 변이정보를 함께 monitoring한다. 세 분야에서 수집된 정보는 통합되어 일정 metabolite flux change에 따른 proteome level과 genome level에서의 변이정보를 통해 target gene들을 규명하는 것이 중요하다. genomics tool을 이용하는 경우 이와는 별도로 random mutagenesis를 통해 target gene이 규명되기 전까지 관련 정보를 수집하는 과정이 필요하게 된다.

본 IP제공자가 이 분야에 대해 굳이 설명을 드리고자 하는 것은 이처럼 향후의 metabolic engineering 연구는 여러 분야의 Omics data가 축적되지 않고서는 매우 어렵다는 사실을 주지시키는 데에 그 목적이 있다. 앞으로는 각 Omics에 대한 설명을 하여 이에 대한 이해를 돕고자 한다.....