

P 17

Metabolic Engineering of *Scopolia parviflora* plant for scopoamine, a useful medicinal compound, production

이옥선 · 최명석 · 박정동 · 윤대진*

경상대학교 대학원 응용생명과학부

연구 목적

Tropane alkaloid에 속하는 히오시아민 (hyoscyamine)과 스코폴라민 (scopolamine)은 수종 (數種)의 가지과 식물에서 생합성되어지는 중요한 의학 화합물이다. 그러나, 히오시아민은 중추 신경계를 약화시키며 말초 신경을 흥분시키는 부작용이 있지만 스코폴라민은 진정제로서 심장 이완제등의 안정적인 물질이기 때문에 히오시아민보다 스코폴라민에 대한 수요가 상업적으로 훨씬 크다. H6H (hyoscyamine 6 β -hydroxylase)는 히오시아민에서 스코폴라민으로의 2단계의 연속적인 oxidation 반응을 촉매하는 효소이다. 따라서 본 연구에서는 한국 자생식물인 미치광이 풀에 H6H 및 tropane alkaloid의 생합성 경로의 key enzyme으로 작용하는 PMT (putrescine N-methyltransferase)를 도입하고 스코폴라민 생산을 조사하였다.

재료 및 방법

- 식물재료 : 한국 자생식물인 미치광이 풀 (*Scopolia parviflora*)
- 식물체내의 발현조사 : Western blotting 및 Northern blot
- 알칼로이드 함량조사 : HPLC 분석법

결과 및 고찰

1. 미치광이 풀에서 main root, branch root, flower, stem 그리고 leaf을 분리한 후 western blotting으로 확인한 결과 뿌리에

서만 H6H 및 PMT가 특이적으로 발현됨을 알 수 있었다.

2. HPLC 분석의 결과 알칼로이드 함량은 모든 조직에서 확인할 수 있었다.
3. 안정적인 알칼로이드를 검출하기 위해서 뿌리의 배양 세포를 이용해 각각 히오시아민을 0 mM, 0.1mM, 1mM을 feeding하고 HPLC분석법으로 알칼로이드 함량을 측정 한 결과 스코폴라민 함량이 증가됨을 확인할 수 있었다.
4. 스코폴라민 함량을 증가시키기 위해서 *A. rhizogenes*를 이용해 미치광이풀의 형질 전환체를 만들고 알칼로이드 함량을 측정 한 결과 control보다 적게는 2배에서 많게는 10 배까지 증가됨을 관찰할 수 있었다. 이와 같은 결과로 대사 제어공학을 이용하여 효소들의 활성을 조절하게 되면 알칼로이드 함량을 높일 수 있다는 것을 알게 되었다.
5. 또한 생합성 효소들의 발현을 조절하는 여러 가지 요소들을 알아보기 위하여 여러 elicitor를 처리하였고 그 결과 NaCl을 처리하게 되면 알칼로이드 함량이 오히려 줄어드는 것을 확인할 수 있었다.
6. NaCl이 유전자 level에서 효소의 활성에 영향을 미치는지 알아보기 위해서 northern blotting을 수행한 결과 NaCl이 PMT와 H6H 유전자의 발현을 조절하여 스코폴라민의 합성을 억제함으로써 alkaloid 합성 반응 경로의 조절 인자임을 알 수가 있었다.