



경북대학교 자연과학대학 미생물학과 미생물유전학연구실

김종국교수 kimjg@knu.ac.kr

남쪽에는 비슬산과 북쪽에는 팔공산에 의해서 둘러 쌓인 전형적인 분지인 대구의 산격동 복현동산에 위치하고 있으며, 진리, 궁지, 봉사를 교육 이념으로, 개교 58주년을 맞는 경북대학교 자연과학대학 내의 본 연구실은 김종국교수를 중심으로 2005년도에는 박사수료생 신용규, 이진형, 김종명, 박사과정 임순옥, 석사과정 송권호, 남윤중, 박미영, 이은진, 최혜진, 한승연, 학부생 이재연 등이 매일같이 연구실에서 열심히 연구에 임하고 있으며, 이영기, 박수영, 정태욱, 이지영 등은 관련 연구기관에서 협력 연구를 수행하고 있다.

연구실의 주된 연구주제는 미생물 유전자의 구조와 기능해명이다. 주로 진균류를 중심으로 미생물-식물 상호관계를 해명할 수 있는 식물내생진균류(endophyte)와 외생진균류(ectomycorrhizae)에 관련된 연구와 미생물성 식의약품의 생산과 관련이 있는 biopolymer와 고도불포화지방산의 생산관련 유전자 발현 조절에 관련된 연구 등을 수행하고 있다.

미생물-식물 상호작용

1. 식물내생진균류(endophyte)에 의한 식물생장호르몬

식물생장 조절물질은 주로 5가지의 그룹으로 분류되는데, 식물에서 세포신장 및 기타 성장관련 반응을 자극하는 옥신(Auxin), 이것과 작용은 비슷하지만 화학구조와 작용양상이 상이한 지베렐린(Gibberellin), 세포분열과 세포분화 및 기타 다양한 식물반응의 조절을 자극하는 Cytokinins, 식물생장과 발달을 저해하는 생장저해제들과, 기체이면서 식물의 생육을 억제하고 과일의 숙성을 촉진하며 기타 다양한 식물의 반응을 저해하는 ethylene 등이 알려져 있다. 이들 중에서 지베렐린의 식물생장 촉진 활성이 가장 강력한 것으로 알려져 있으므로 이것에 초점을 맞추어 연구를 진행하고 있는데, 흥미로운 점은 식물생장에 필수적이며 식물체내에서 생산되고 있는 지베렐린이 미생물에 의해서도 생산되고 있다는 점이다. 그러므로 식물과 밀접한 관련이 있는 식물내생진균류로부터 효율적으로 지베렐린을 생산하는 균주를 분리하였다.

Gibberellin(GAs)은 diterpenoid 복합체로서, 녹색식물과 곰팡이 그리고 세균에 의해서 생산되며 식물의 성장과 종자의 발아, 줄기의 신장, 잎의 성장, 개화촉진 그리고 과육의 성숙을 조절한다고 알려져 있다. 1935년 Yabuta에 의해 벼가 웃자라는 벼키다리병(bakanae disease)의 원인이 되는 균인 *Gibberella fujikuroi*가 분리되었으며, GAs는 이 균이 생산하는 이차대사산물이다. 지금까지 130종류의 GAs가 있다고 알려져 있으며,

그 중에서 GA1, GA3, GA4 그리고 GA7(그림 1)이 생화학적으로 활성이 높은 것으로 알려져 있다. 이러한 GAs는 상업적으로 널리 이용되는데 대부분이 GA3이며 포도 종자의 성장관련과 감귤류의 외피를 부드럽게 하고 과피의 상태를 좋은 상태로 유지하여 노화를 억제하며 해충 및 다른 환경요소들로부터의 훼손을 막아 상품성을 높이기도 한다. 특히, 사과에서는 외피의 적갈색 반점들을 조절하여 품질을 향상시키고, 일반적으로 꽃이 피지 않는 계절에 꽃의 개화를 유도하므로 장식용 화훼류의 생산에도 이용되고 있다. 때때로 몇몇 식물에서는 종종 개화에 문제가 있을 수도 있는데 이러한 경우에도 GAs가 적용되고 있다. GAs를 생산한다고 알려져 있는 균으로는 *Gibberella fujikuroi*를 비롯하여 *Spaceloma manihoticola*, *Neurospora crassa*, *Phaeosphaeria sp.* L487등이 있으나 아직까지 상업적으로 이용되는 균은 *G. fujikuroi* 외에는 별로 알려져 있지 않다. *G. fujikuroi*에서 GAs의 생합성 경로는 geranylgeranyl diphosphate(GGDP), ent-copalyl-diphosphate(CPP)을 거쳐 ent-kaurene이 합성되어 cytochrome P450 monooxygenases에 의한 다양한 산화과정을 거쳐 GAs가 생산되며(그림 2), 아직까지 활성형 GA가 생산되는 정확한 생합성 경로는 보고 되어있지 않다.

따라서 본 연구에서는 농업과 원예분야에 매우 유용한 GAs를 생산하는 새로운 미생물을 탐색하여 *G. fujikuroi* 야생균주 보다 GA 생산성이 매우 우수함을 확인하였으며, 이 균주의 배양액을 벼에 처리했을 때 생산이 유도되는 벼의 proteome분석을 수행하였으며, GA생산성을 극대화시키기 위하여 GA생산 최적조건의 검색, GA생합성 경로에 관련된 유전자들의 클로닝과 구조분석 및 균주 개량에 관련된 연구(Biogreen 21 과제: 미생물 유래 식물 생장 조절 인자 연구(2002-2005)의 세부과제 책임자로 참여하며 수행하고 있는데, 현재 전량 수입에 의존하고 있는 GAs를, 기존의 균주보다 우수한 균주를 국내에서 분리하여 효율적으로 생산함으로써 최소한 국내수요의 일정부분이라도 담당하게 되기를 바란다.

2. 외생진균류(ectomycorrhizae)의 자실체형성관련 유전자발현조절

진균류의 표면단백질인 hydrophobin은 사상균 및 담자균의 세포표층에 소수성의 층을 만들어서, 기중균사, 포자형성, 감염구조형성 및 자실체를 형성하는 역할을 담당하는 저분자량의 단백질이며, 특징적인 자가회합성(그림 3)을 가지고 있으므로 액상과 기상의 계면에 양친매성의 단층막을 형성하기 때문에 응용면에서도 기대가 되는 단백질이다. Hydrophobin은 특징적인 Cys 잔기를 가진 소수성의 단백질로서(그림 4), 이것의 유전자는 *Schizophyllum commune*에서 기균사의 형성초기

동안에 활성화되는 유전자로서 최초로 분리되었다. 이후 계속하여 *Coprinus cinereus*에서 CoH1, CoH2, *Agaricus bisporus*에서 ABH1, ABH2, ABH3, *Pleurotus ostreatus*에서 Fbh1, *Lentinula edodes*에서는 Le.hyd1과 Le.hyd2가 분리되었으며, 이들의 발현은 발달단계에 따라 다르게 조절됨을 알 수 있었다. 또한 hydrophobin 의 가장 중요한 특징중의 하나는 숙주에 침입할 때 기능을 발휘하는 것으로서, cerato-ulmin 은 *C. ulmi*의 세포벽 구성성분으로서, bark beetle 에 부착하여 병원성을 발휘할 때 발현량이 증가되며, *Cryphonectria parasitica*에서도 cryparin 이라는 일종의 hydrophobin이 생산되어 기질 부착 또는 기중균사 형성시에 역할을 수행하며, *Magnaporthe grisea*의 hydrophobin도 벼의 조직에 감염될 때 발현되는 것이 확인되었으며, *Cladosporium fulvum*도 토마토에 감염시에 hydrophobin의 생산이 증가하였으며, *Claviceps purpurea*의 hydrophobin은 alkaloid를 생산할 때 발현이 많이 됨이 밝혀졌으며, *Pisolithus*는 식물뿌리에 부착할 때 hydrophobin 이 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 그러므로 균근균으로서 존재하는 *Tricholoma matsutake*에서는 hydrophobin이 식물의 뿌리에 침입할 때 중요한 기능을 발휘할 것이 기대되어 *T. matsutake*에서 hydrophobin을 정제하여 생화학적인 성질을 연구하고, 이것의 유전자를 클로닝하여 유전자의 구조를 밝힘과 동시에, 이 유전자의 발현조절 양상도 연구함으로써, 최종적으로는 *T. matsutake*에서 hydrophobin이 균근균 형성시 작용하는 mechanism을 분자생물학 수준에서 밝히고자 하여 연구를 진행하고 있으며, 이 단백질외에도 균근형성에 관여할 것으로 추정되는 수종의 단백질에 대해서도 연구를 진행하고 있다.

본 연구에서 target로 삼고 있는 hydrophobin은 자실체 형성 및 균근의 형성에 관여하는 단백질로 추정되므로 이 단백질의 합성에 관여하는 요인과 유전자의 구조와 기능을 연구하면, 균근 형성에 관여하는 분자구조를 밝히는데 기여할 수 있을 것으로 생각되어, 과학재단의 지원으로 기초연구(*Tricholoma matsutake*의 hydrophobin의 분자구조 : 2000.9-2003.8)를 수행하였으며, 기초연구의 심화 및 응용성 연구는 농림기술개발연구과제로 수행 중(버섯유래 표면단백질을 이용한 기능성 소재 개발: 2003.11-2006.11)에 있는데, 이 단백질은 균사에 소수성을 부여하고, 액체배양시 gas vesicle을 형성하는 기능 등을 가지고 있으므로 안정한 거품과 관련된 화장품, 식품 등의 제조에 적용 가능성이 있으며, 의료용 소재의 코팅제로서도 개발 될 가능성이 있으므로, 이 물질의 미생물에서의 역할 및 식물체 침입시의 기능관련연구와 유전체 수준에서의 연구 및 이 물질의 면역활성 관련연구와 제품개발 관련 연구를 공동연구자들과 협동으로 수행 중에 있다.

기타

미생물을 이용한 고도 불포화지방산 생산관련 연구 및 biopolymer의 생산이 조절된 청국장관련 연구

심장질환 예방개선제로 이용될 수 있는 고도불포화지방산을 미생물을 이용하여 생산하기 위한 기초적인 연구 및, polyglutamic acid와 levan 등의 biopolymer의 생산량이 유전적으로 조절되는 변이주를 이용한 청국장 관련 연구(ARPC과제: 청국장 바이오폴리머의 유전적 제어에 의한 생산과 생리활성 연구 및 화장품 개발 : 2004.5.-2006.5)를 공동연구자들과 협동으로 수행하고 있다.

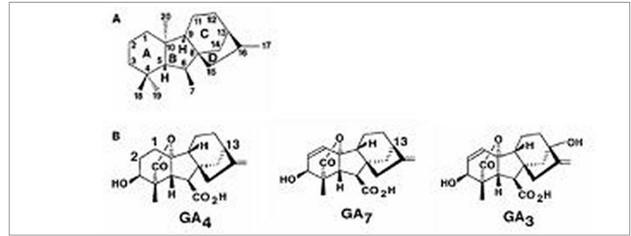


그림 1. 지베렐린의 구조.
A: ent-gibberellane 골격 B: 활성화된 지베렐린의 구조

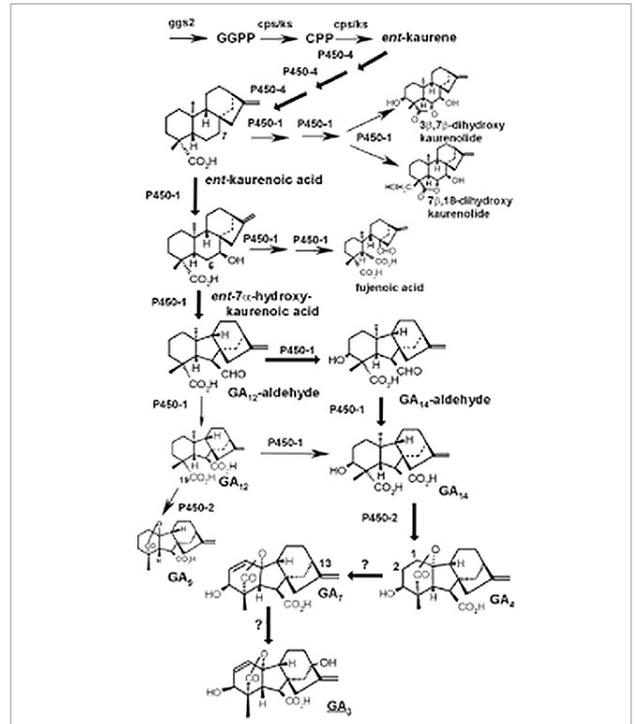


그림 2. *G. fujikuroi*의 지베렐린 생합성 경로

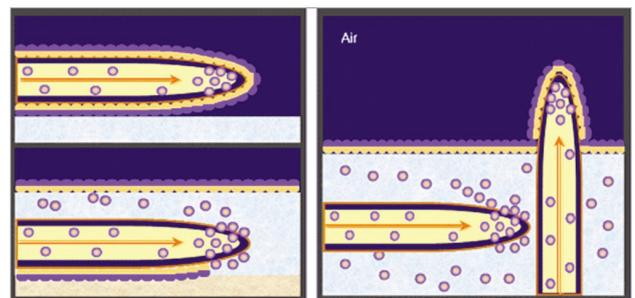


그림 3. 하이드로포빈의 self assembly 과정.

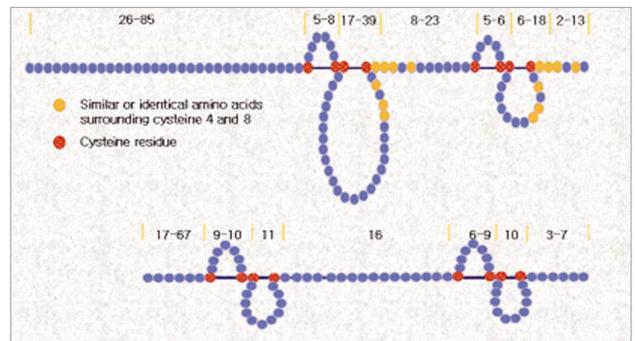


그림 4. 분자내 disulfide linkages에 기초한 하이드로포빈의 2차구조.