

남극낫깃털이끼 테르페노이드 생합성 경로 연구

Terpene biosynthetic pathway in *Sanionia uncinata*



한국과학기술원

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “포스트 극지유전체프로젝트: 극지 유용유전자 발굴을 위한 기능유전체 연구” 과제의 위탁연구 “남극낫깃털이끼 테르페노이드 생합성 경로 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.



2025. 12. 29

(본과제) 총괄연구책임자	: 김 진 형
위탁연구기관명	: 한국과학기술원
위탁연구책임자	: 김 상 규
위탁참여연구원	: 김 현 진
위탁참여연구원	: 정 성 준

보고서 초록

위탁연구과제명		남극낫깃털이끼 테르페노이드 생합성 경로 연구				
위탁연구책임자		김 상 규	해당단계 참여연구원수	2	해당단계 연구비	144 (백만원)
연구기관명 및 소속부서명		한국과학기술원 생명과학과		참여기업명	-	
국제공동연구		상대국명 : - 상대국연구기관명 :-				
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자이내)					보고서 면수	21
○ 남극낫깃털이끼(<i>Sanionia uncinata</i>) 유래 테르페노이드 생합성 효소를 체계적으로 규명하여 유용 유전자원을 확보함. ○ SuTPS7(SuMTPSL2)의 효소 기능을 in vivo 및 in vitro에서 검증하고, 아모르파디엔 합성 효소임을 GC-MS 분석으로 확인함. ○ 재구축된 유전체와 전사체 정보를 기반으로 추가 TPS 후보 유전자를 발굴하고, SuMTPSL3의 효소 기능을 새롭게 규명함. ○ 담배 잎 일시적 과량발현 시스템을 구축하여 테르페노이드 생산 가능성을 실증함. ○ PacBio HiFi 롱리드 시퀀싱과 Hi-C 분석을 통해 고품질 남극낫깃털이끼 유전체를 조립·주석화함. ○ 본 연구 성과는 국제학술지(Planta, BMC Plant Biology 등)에 게재되어 극지 생물자원의 활용 가능성을 학문적으로 입증함.						
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	남극낫깃털이끼, 테르페노이드 생합성, 테르펜 합성효소, 기능유전체학, 극지 생물자원				
	영 어	<i>Sanionia uncinata</i> , Terpene biosynthesis, Terpene synthase, Functional genomics, Polar biological resources				

요 약 문

I. 제 목

남극낫깃털이끼 테르페노이드 생합성 경로 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구의 목적은 남극 극한 환경에 적응한 이끼 *Sanionia uncinata*로부터 테르페노이드 생합성에 관여하는 핵심 효소와 유전자원을 발굴·규명하고, 이를 기반으로 유용 천연물 생산 가능성을 확장하는 데 있다. 극지 생물은 장기간의 환경 적응을 통해 독특한 대사경로와 효소 특성을 진화시켜 왔으나, 기능유전체 수준에서의 체계적인 연구는 매우 제한적이었다. 특히 테르페노이드는 의약·화학·바이오산업 전반에서 활용 가치가 높은 물질군으로, 신규 효소 자원의 확보는 기존 생산 시스템의 한계를 극복할 수 있는 중요한 대안이 된다. 따라서 본 연구는 극지 생물자원의 잠재적 가치를 분자·생화학적으로 규명함과 동시에, 극지유전체 정보의 활용도를 제고하고 향후 합성생물학 및 바이오소재 산업으로의 연계를 가능하게 한다는 점에서 학문적·산업적 필요성이 크다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구는 남극낫깃털이끼(*Sanionia uncinata*) 유래 테르페노이드 생합성 경로를 규명하기 위해 테르펜 합성효소 후보 유전자의 발굴, 기능 검증 및 생산 시스템 구축을 포괄적으로 수행하였다. 롱리드 시퀀싱과 전사체 분석을 기반으로 유전체를 고품질로 조립·주석화하고, 이를 활용하여 테르펜 합성효소 후보 유전자를 체계적으로 선별하였다. 선별된 유전자는 식물 및 미생물 발현 시스템을 이용하여 in vivo 및 in vitro 수준에서 효소 기능을 검증하였으며, GC-MS 분석을 통해 생성 대사산물을 동정하였다. 또한 담배 잎 일시적 과량발현 시스템을 구축하여 유용 테르페노이드의 생산 가능성을 평가함으로써, 극지 생물자원의 기능유전체 정보가 바이오소재 개발로 연계될 수 있는 연구 범위를 설정하였다.

IV. 연구개발결과

본 연구를 통해 남극낫깃털이끼(*Sanionia uncinata*) 유래 테르페노이드 생합성에 관여하는 핵심 테르펜 합성효소를 규명하고, 해당 효소들의 기능을 분자 및 생화학적 수준에서 검증하였다. SuTPS7(SuMTPSL2)을 포함한 주요 효소가 아모르파디엔을 비롯한 세스퀴테르펜 합성에 관여함을 in vivo 및 in vitro 실험을 통해 확인하였으며, 재구축된 고품질 유전체와 전사체 정보를 활용하여 추가적인 테르펜 합성효소 후보 유전자를 발굴하고 그중 SuMTPSL3의 효소 기능을 새롭게 규명하였다. 또한 담배 잎 일시적 과량발현 시스템을 구축하여 극지 이끼 유래 효소를 이용한 테르페노이드 생산 가능성을 실증하였다. 본 연구 결과는 국제학술지에 게재되어 학문적 타당성을 확보하였으며, 극지 생물자원의 기능

유전체 정보를 유용 바이오소재 개발로 확장할 수 있는 기반을 마련하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

본 연구에서 확보한 남극낫깃털이끼 유래 테르펜 합성효소 및 유전체 정보는 테르페노이드 기반 의약·바이오소재의 생산 효율 향상을 위한 핵심 유전자원으로 활용될 예정이다. 규명된 효소의 특성을 바탕으로 미생물 및 식물 생산 플랫폼에 적용하여 고부가가치 천연물의 대량 생산 기술로 확장하고, 향후 합성생물학 기반 대사경로 최적화 및 산업적 활용 연구로 연계할 계획이다.



S U M M A R Y

(영 문 요 약 문)

I. Title

Terpene biosynthetic pathway in *Sanionia uncinata*

II. Purpose and Necessity of R&D

The objective of this study is to identify and characterize key enzymes and genetic resources involved in terpene biosynthesis from the Antarctic moss *Sanionia uncinata*, which has adapted to extreme polar environments, and to expand the potential for producing valuable natural products based on these resources. Polar organisms have evolved unique metabolic pathways and enzyme properties through long-term adaptation to harsh environmental conditions; however, systematic investigations at the functional genomics level remain limited. Terpenoids, in particular, represent a class of compounds with high value across pharmaceutical, chemical, and biotechnological industries, and the discovery of novel enzymatic resources provides an important strategy to overcome the limitations of existing production systems. Therefore, this study is significant in that it elucidates the latent value of polar biological resources at the molecular and biochemical levels, enhances the utility of polar genomic information, and enables future applications in synthetic biology and bio-based industries.

III. Contents and Extent of R&D

This study comprehensively addressed the identification, functional characterization, and application of terpene biosynthetic pathways in the Antarctic moss *Sanionia uncinata*. A high-quality genome assembly and annotation were generated using long-read sequencing and transcriptomic data, enabling systematic identification of candidate terpene synthase genes. Selected genes were functionally validated through in vivo and in vitro assays using plant- and microbe-based expression systems, and the resulting metabolites were identified by GC-MS analysis. In addition, a transient overexpression system in tobacco leaves was established to evaluate the feasibility of producing valuable terpenoids. Through these approaches, the scope of this research was defined to bridge functional genomic information from polar organisms to the development of bio-based resources and production platforms.

IV. R&D Results

Through this study, key terpene synthases involved in terpenoid biosynthesis in the Antarctic moss *Sanionia uncinata* were identified and functionally characterized at molecular and biochemical levels. The enzymatic activities of major candidates, including SuTPS7 (SuMTPSL2), were validated through in vivo and in vitro assays, demonstrating their roles in the biosynthesis of sesquiterpenes such as amorphadiene. Using a high-quality reconstructed genome and transcriptomic datasets, additional terpene synthase candidates were identified, and the enzymatic function of SuMTPSL3 was newly characterized. Furthermore, a transient overexpression system in tobacco leaves was established to demonstrate the feasibility of producing terpenoids using polar moss-derived enzymes. These results were published in international peer-reviewed journals, providing a validated foundation for extending functional genomic information from polar organisms to the development of valuable bio-based resources.

V. Application Plans of R&D Results

The terpene synthases and genomic information identified in this study from the Antarctic moss *Sanionia uncinata* will be utilized as key genetic resources to enhance the production efficiency of terpenoid-based pharmaceutical and bio-based materials. Based on the characterized enzymatic properties, these resources will be applied to microbial and plant production platforms to enable scalable biosynthesis of high-value natural products, and further extended to metabolic pathway optimization and industrial applications through synthetic biology approaches.

목 차

제 1 장 서론

- 제 1 절 연구개발의 목적
- 제 2 절 연구개발의 필요성
- 제 3 절 연구개발의 범위

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 제 1 절 국외 기술개발 현황
- 제 2 절 국내 기술개발 현황

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

- 제 1 절 연구개발 수행 전략 및 접근 방법
- 제 2 절 연구개발 수행 내용
- 제 3 절 연구개발 결과

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

- 제 1 절 연구개발목표 달성도
- 제 2 절 대외기여도

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 제 1 절 추가 연구의 필요성 및 후속 연구 방향
- 제 2 절 타 연구 및 학문 분야로의 응용 가능성
- 제 3 절 기업화 추진방안 및 산업적 활용 가능성

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 제 1 절 테르페노이드 생합성 연구의 국제적 동향
- 제 2 절 테르펜 합성효소의 구조·기능 및 진화 연구 동향
- 제 3 절 극지 생물 유래 효소 및 유전체 연구 동향
- 제 4 절 합성생물학 및 대사공학 기술 트렌드
- 제 5 절 본 연구에의 반영 및 시사점

제 7 장 참고문헌

제 1 장 서론

제 1 절 연구개발의 목적

본 연구의 궁극적인 목적은 남극 극지 환경에 서식하는 이끼류인 남극낫깃털이끼 (*Sanionia uncinata*)를 대상으로 기능유전체 연구를 수행하여, 테르페노이드 생합성에 관여하는 핵심 유전자 및 효소를 발굴·규명하고, 이를 활용 가능한 유용 유전자원으로 확보하는 데 있다. 극지 생물은 장기간에 걸쳐 저온, 강한 자외선, 제한된 수분 및 영양 환경과 같은 극한 조건에 적응하면서 독특한 생리적·대사적 특성을 진화시켜 왔으며, 이러한 특성은 기존의 온대 또는 열대 생물 자원에서는 발견되지 않는 신규 효소 및 대사경로를 포함할 가능성이 높다.

특히 테르페노이드는 식물 이차대사산물 가운데 구조적 다양성과 생리활성이 매우 큰 물질군으로, 의약, 향료, 화장품, 농업 및 바이오화학 산업 전반에서 폭넓게 활용되고 있다. 그러나 대부분의 테르페노이드 생산은 제한된 소수 식물 자원에 의존하고 있으며, 생산 수율과 안정성 측면에서 구조적 한계를 가지고 있다. 이에 따라 신규 테르펜 합성효소 및 대사경로의 발굴은 고부가가치 천연물 생산 기술의 혁신을 위한 핵심 과제로 인식되고 있다. 본 연구는 극지 식물 자원을 대상으로 이러한 문제에 접근함으로써, 기존 연구가 도달하지 못했던 새로운 생합성 가능성을 탐색하고자 하였다.

제 2 절 연구개발의 필요성

극지 생물자원은 국제적으로 보호와 관리의 대상이 되면서도 동시에 미래 바이오산업을 위한 잠재적 자원으로 주목받고 있다. 그러나 현재까지 극지 생물 연구는 주로 생태, 환경 적응, 종 다양성 분석 등에 집중되어 왔으며, 유전체 정보 확보 이후 이를 실제 기능적·산업적 자원으로 전환하는 연구는 매우 제한적인 상황이다. 특히 극지 식물 및 이끼류는 유전체 구조와 대사경로에 대한 이해가 부족하여, 확보된 유전체 정보가 실제 활용으로 이어지지 못하는 한계를 가지고 있다.

테르페노이드 생합성 연구 측면에서도, 지금까지의 연구는 약용식물이나 미생물 중심으로 진행되어 왔으며, 극지 식물 유래 테르펜 합성효소의 기능을 실험적으로 규명한 사례는 거의 보고된 바 없다. 이러한 연구 공백은 극지유전체 정보의 활용 가능성을 제한하는 주요 요인으로 작용해 왔다. 따라서 극지 이끼 유래 테르펜 합성효소를 기능유전체 및 생화학적 수준에서 규명하는 연구는 학문적 가치뿐만 아니라, 극지 생물자원의 활용 전략을 구체화한다는 점에서 필수적인 연구 과제라 할 수 있다.

제 3 절 연구개발의 범위

본 연구는 남극낫깃털이끼 유래 테르페노이드 생합성 경로 규명을 목표로 하여, 유전체 정보 구축, 후보 유전자 발굴, 효소 기능 검증 및 생산 가능성 평가까지를 포괄하는 범위에서 수행되었다. 구체적으로는 롱리드 시퀀싱과 전사체 분석을 활용한 고품질 유전체 조립 및 주석화, 테르펜 합성효소 후보 유전자의 생물정보학적 선별, 식물 및 미생물 발현 시스템을 이용한 in vivo 및 in vitro 기능 검증, GC-MS 분석을 통한 생성 대사산물 동정, 그리고 식물 기반 일시적 과량발현 시스템을 활용한 생산 가능성 검증을 포함한다. 이를 통해 극지 생물자원의 기능유전체 정보가 실제 활용 가능한 바이오자원으로 전환될

수 있는 연구 범위를 설정하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국외 기술개발 현황

국외에서는 지난 수십 년간 테르페노이드 생합성 연구가 지속적으로 발전해 왔으며, 특히 약용식물 및 산업 미생물을 중심으로 테르펜 합성효소의 구조, 기능, 진화에 대한 연구가 축적되어 왔다 (Chen et al, 2011; Jia et al., 2022). 개뽕쭉 유래 아모르파디엔 합성효소를 이용한 항말라리아제 전구체 생산 연구는 테르페노이드 생합성 연구의 대표적인 성공 사례로 평가되며 (Ro et al., 2006), 이후 합성생물학 기술과 결합하여 미생물 생산 플랫폼을 활용한 대량 생산 연구가 활발히 진행되고 있다 (Westfall et al., 2012; Paddon et al., 2013).

최근에는 단백질 구조 예측 기술과 유전체 빅데이터 분석 기법의 발전으로 새로운 테르펜 합성효소를 예측·설계하려는 시도도 증가하고 있다 (Whitehead et al., 2023). 그러나 이러한 연구의 대부분은 온대 또는 열대 지역의 식물이나 미생물에 국한되어 있으며, 극지 식물 자원에 대한 기능유전체 및 대사경로 연구는 매우 제한적이다. 극지 생물 연구는 주로 환경 적응 메커니즘 규명에 초점이 맞추어져 있어, 생합성 효소의 기능 규명이나 산업적 활용 가능성에 대한 연구는 상대적으로 소외되어 왔다.

제 2 절 국내 기술개발 현황

국내에서는 식물 이차대사산물 생합성, 기능유전체학, 유전체 기반 신물질 탐색 연구가 꾸준히 발전해 왔으며, 다양한 약용식물 및 작물을 대상으로 한 연구 성과가 축적되어 있다. 또한 극지연구소를 중심으로 남극 및 북극 생물자원의 유전체 정보 확보와 기초 생물학적 연구가 수행되어 왔다 (Yu et al., 2024). 그러나 국내에서도 극지 생물자원을 대상으로 한 연구는 주로 유전체 시퀀싱과 기초 분석에 머무는 경우가 많아, 확보된 유전체 정보가 기능 규명이나 응용 연구로 충분히 확장되지 못하는 한계가 존재한다.

이러한 상황에서 본 연구는 극지 이끼 유래 테르펜 합성효소의 기능을 실험적으로 규명하고, 생산 가능성까지 검증한 국내 최초 수준의 연구로서, 국내외 기술개발 흐름 속에서 극지유전체 연구의 활용 단계를 한 단계 진전시켰다는 점에서 의미를 가진다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발 수행 전략 및 접근 방법

본 연구는 극지 식물 자원의 기능유전체 정보를 실제 활용 가능한 유전자원으로 전환하는 것을 목표로, 기능유전체학, 분자생물학, 생화학, 분석화학을 유기적으로 결합한 다학제적 연구 전략을 기반으로 수행되었다. 연구의 전반적인 접근은 유전체 정보 확보 → 후보 유전자 예측 → 효소 기능 검증 → 대사산물 동정 및 생산 가능성 평가로 이어지는 단계적 구조를 갖는다 (그림 1).



그림 1. 연구 수행을 위한 전반적인 접근 방법 모식도

우선, 남극낫깃털이끼 유전체 전반에 존재하는 테르펜 합성효소 후보를 체계적으로 탐색하기 위해 생물정보학적 분석을 수행하였다. 보존된 아미노산 모티프(aspartate-rich motif, NSE/DTE motif)와 단백질 서열 유사성 분석을 통해 테르펜 합성효소 후보 유전자를 선별하고, 단백질 구조 예측을 통해 기존에 기능이 규명된 테르펜 합성효소와의 구조적 유사성을 비교함으로써 기능 가능성을 사전에 평가하였다. 이러한 예측 기반 분석은 이후 실험 단계에서 검증할 후보 유전자를 선별하는 데 중요한 기준으로 활용되었다.

다음 단계에서는 예측된 후보 유전자의 실제 효소 기능을 검증하기 위해 식물 및 미생물 발현 시스템을 활용하였다. 식물 기반 발현 시스템은 복잡한 대사 환경에서의 효소 기능을 검증하는 데 유리하며, 미생물 발현 시스템은 정제된 단백질을 이용한 직접적인 효소 활성 분석에 적합하다. 본 연구에서는 두 시스템을 병행함으로써, 예측된 효소 기능을 in vivo 및 in vitro 수준에서 교차 검증하는 전략을 취하였다. 이를 통해 생물정보학적 예측 결과의 신뢰성을 실험적으로 검증하고, 극지 이끼 유래 효소의 생화학적 특성을 정밀하게 규명하고자 하였다.

제 2 절 연구개발 수행 내용

본 연구에서는 남극낫깃털이끼의 테르페노이드 생합성 경로를 규명하기 위해 유전체 분석부터 효소 기능 검증에 이르는 일련의 연구를 체계적으로 수행하였다.

먼저 PacBio HiFi 기반 롱리드 시퀀싱을 통해 남극낫깃털이끼 전장 유전체 데이터를 확보하였다 (그림 2). 롱리드 시퀀싱은 반복 서열이 많은 식물 유전체에서도 높은 연속성을 확보할 수 있어, 테르펜 합성효소 유전자군과 같이 유사한 서열이 반복적으로 존재하는

유전자 패밀리 분석에 특히 유리하다. 확보된 시퀀싱 데이터는 Hi-C 데이터와 결합하여 유전체 조립의 정확도를 향상시켰으며, 다양한 환경 조건에서 얻어진 전사체 데이터를 활용하여 유전자 구조를 정밀하게 주석화하였다 (그림 3, 표 1).

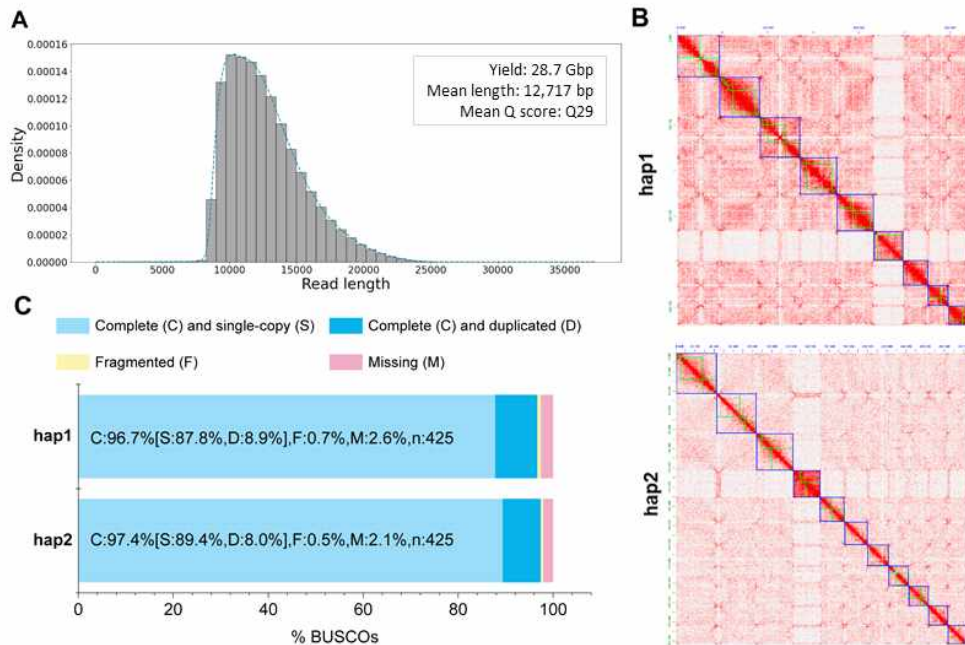


그림 2. PacBio HiFi 기반 롱리드 시퀀싱을 이용한 남극낫깃털이끼 고품질 유전체 정보 확보. A, 남극낫깃털이끼 유전체의 약 80배 정도의 롱리드 시퀀싱 데이터를 확보. B, Hi-C 데이터 등을 활용하여 유전체를 조립. C, BUSCO 평가 결과 고품질의 유전체 정보를 확보함을 확인.

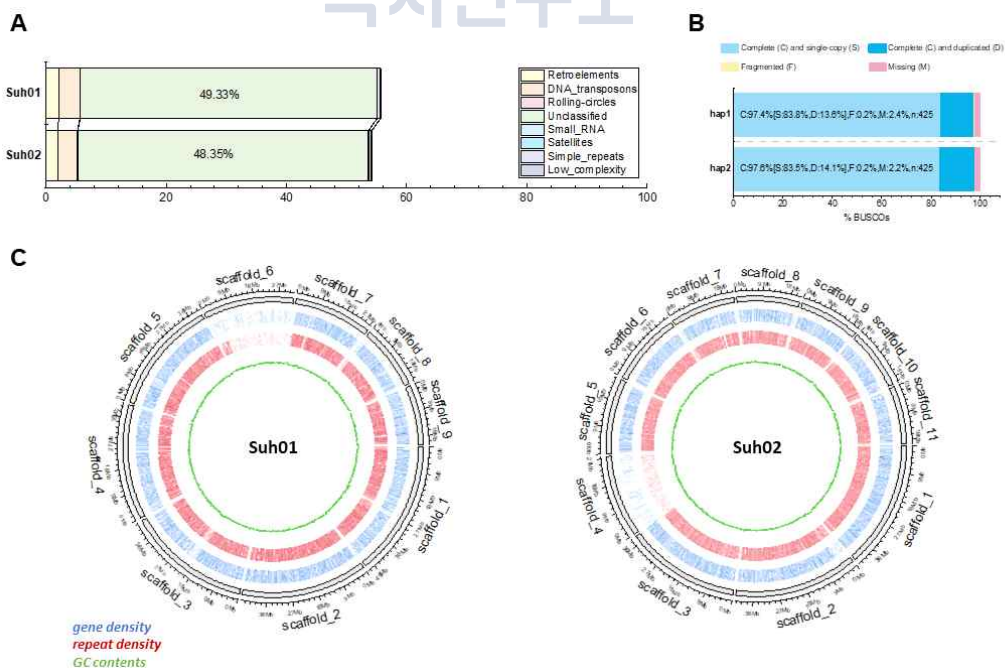


그림 3. 남극낫깃털이끼 유전체 주석화.

반복서열 분석 결과(A) 및 유전자 주석의 BUSCO 평가 결과(B). 조립된 유전체는 (바깥쪽에서 안쪽으로) 유전자 밀도 (파랑), 반복 서열 밀도 (빨강), GC contents (초록)을 나타내는 원형 그래프(C)로 요약.

표 1. 남극낫기털이끼 유전체 주석화 통계 결과

Type	기존 보고된 전사체 기반 유전자 정보 (Yu et al., 2024)	Suh01	Suh02
Number of genes	15,253	25,265	23,791
Mean CDS length(bp)	1,423	1,174	1,204
Mean exons per gene	7.1	5.4	5.6
Mean intron length (bp)	800	357	353

이렇게 구축된 고품질 유전체 정보를 기반으로 테르펜 합성효소(TPS family) 후보 유전자를 체계적으로 발굴하였다. 후보 유전자들의 아미노산 서열 특징, 유전체 상의 배열 구조, 전사체 발현 패턴을 종합적으로 분석하여, 기능 가능성이 높은 유전자를 우선적으로 선별하였다. 특히 극지 환경 조건을 모사한 전사체 데이터 분석을 통해 환경 반응성과 연관된 TPS 유전자를 도출함으로써, 생리적 의미를 갖는 후보 유전자에 집중하였다 (그림 4).

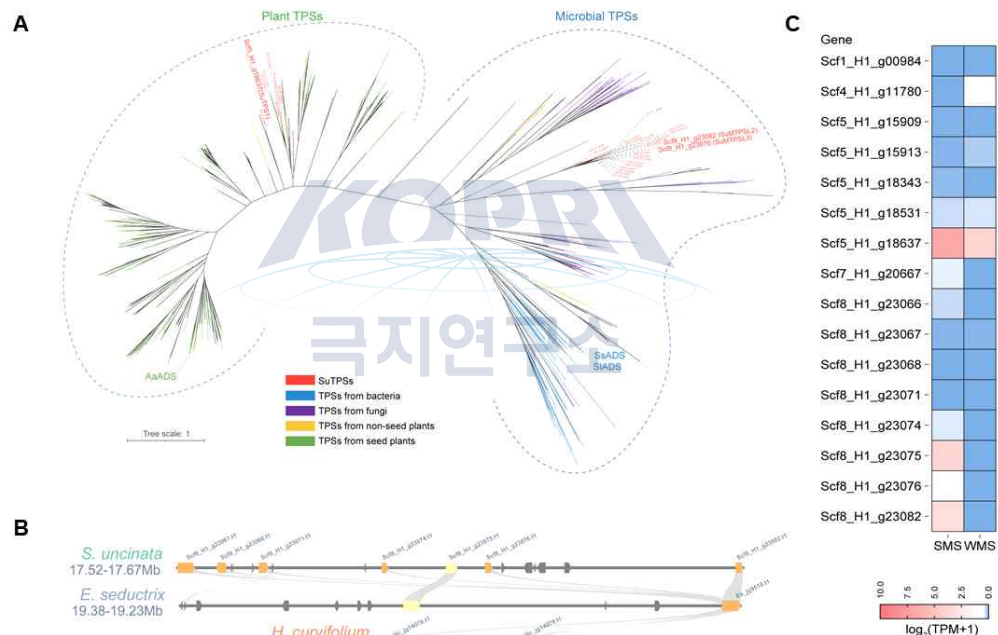


그림 4. 유전체 및 전사체 분석을 통한 후보 효소 유전자 선별.

A, 테르펜 합성효소의 보존된 아미노산 서열을 기반으로 후보 효소 유전자 선별 후, 기존에 알려진 테르펜 합성효소들과 아미노산 서열 비교 및 계통수 재구성을 수행하여 효소 기능 유추. B, 털기털이끼목 이끼들의 유전체와 본 연구에서 조립한 남극낫기털이끼 유전체 비교 분석을 통해 테르펜 합성효소 유전자의 반복 배열 확인. C, 극지 환경 조건 모사 조건 하의 전사체 데이터 분석을 통한 후보 유전자 선별.

선별된 주요 후보 유전자 중 SuTPS7(SuMTPSL2)을 포함한 후보 유전자들은 식물 및 미생물 발현 시스템을 이용하여 기능 검증을 수행하였다 (그림 5). 식물 시스템에서는 애기장대 및 담배 잎을 이용한 형질전환 및 일시적 과량발현을 통해 복합적인 식물 대사 환경에서의 효소 기능을 평가하였다. 미생물 시스템에서는 재조합 단백질을 정제하여 기질과의 반응을 분석함으로써, 효소의 직접적인 촉매 활성을 in vitro에서 검증하였다.

효소 활성 검증 과정에서 생성된 대사산물은 GC-MS 분석을 통해 동정하였으며, 기존에 알려진 테르페노이드 표준 물질 및 데이터베이스와의 비교를 통해 생성물의 화학적 정체성을 명확히 규명하였다. 또한 담배 잎 일시적 과량발현 시스템을 구축하여, 극지 이끼 유래 테르펜 합성효소를 이용한 테르페노이드 생산 가능성을 실험적으로 평가하였다.

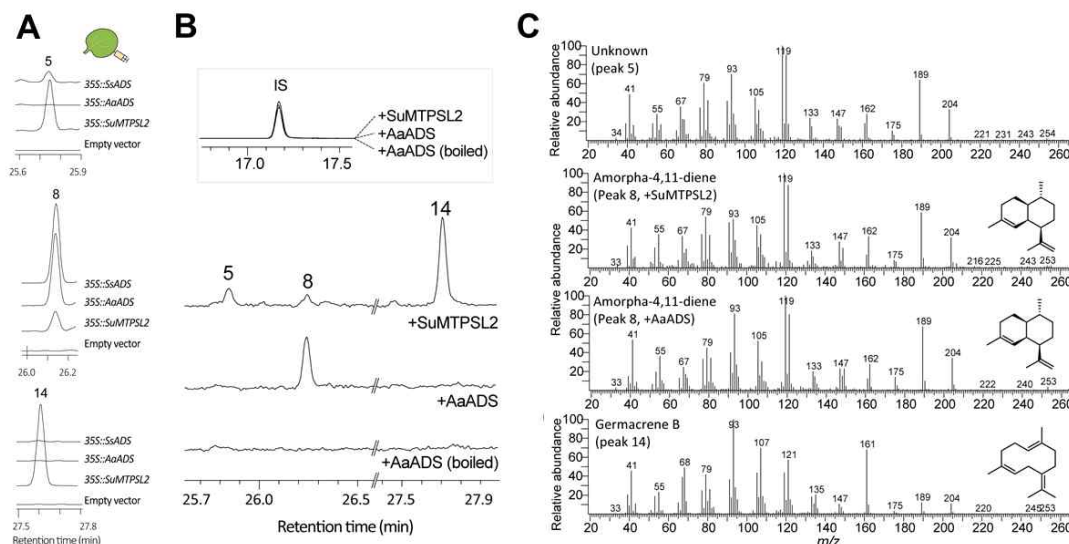


그림 5. SuTPS7(SuMTPSL2) 의 효소 기능 검증.

식물 기반 일시적 과량발현 시스템(A)과 재조합 단백질을 이용한 in vitro 효소 활성 검증(B)을 통해 생성된 대사산물을 GC-MS를 통해 동정(C).

제 3 절 연구개발 결과

본 연구를 통해 남극낫깃털이끼 유래 테르펜 합성효소가 세스퀴테르펜 생합성에 직접적으로 관여함을 세계 최초로 규명하였다. 특히 SuTPS7(SuMTPSL2)의 효소 활성을 명확히 검증하여, 해당 효소가 아모르파디엔을 포함한 특정 세스퀴테르펜을 합성함을 in vivo 및 in vitro 수준에서 입증하였다 (그림 5). 이는 극지 식물 자원이 고부가가치 테르페노이드 생합성 효소의 원천이 될 수 있음을 실험적으로 보여주는 중요한 성과이다.

또한 재구축된 유전체와 전사체 정보를 활용하여 추가적인 테르펜 합성효소 후보를 발굴하였으며, 그중 SuMTPSL3의 효소 기능을 새롭게 규명함으로써 남극낫깃털이끼 내에서 다수의 TPS 효소가 관여하는 테르펜 생합성 네트워크가 존재할 가능성을 제시하였다 (그림 6). 이러한 결과는 극지 이끼에서 관찰되는 테르펜 생합성 경로가 단일 효소에 의존하지 않고, 여러 효소의 조합적 작용을 통해 조절될 수 있음을 시사한다.

아울러 고품질 유전체 조립 결과를 통해 극지 이끼에서만 관찰되는 테르펜 합성효소 유전자 배열 구조를 확인하였으며 (그림 4), 이는 테르펜 생합성 경로의 진화적 특성과 극지 환경 적응과의 연관성을 이해하는 데 중요한 단서를 제공한다. 종합적으로 본 연구 결과는 극지 식물 유래 기능유전체 정보가 단순한 유전체 데이터 확보를 넘어, 실제 활용 가능한 생합성 자원으로 전환될 수 있음을 명확히 입증하였다.

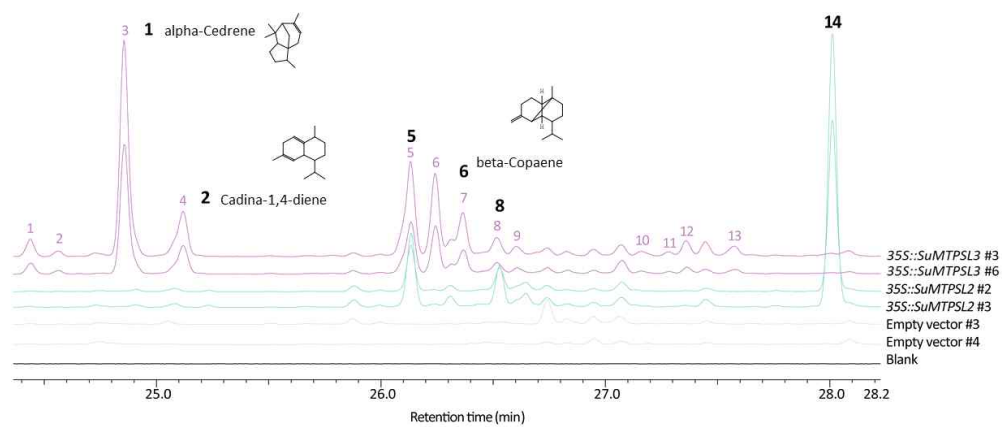


그림 6. SuMTPSL3 과량 발현 식물체 발향 물질 분석.

GC-MS를 이용하여 SuMTPSL2 혹은 SuMTPSL3를 담배 잎에 일시적으로 과량 발현시켜 생성되는 향기 물질을 분석.



제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1 절 연구개발목표 달성도

본 연구는 연구 개시 단계에서 설정한 연차별 연구목표 및 최종 목표에 따라 단계적으로 수행되었으며, 각 연차별 핵심 성과를 통해 전체 연구목표를 전반적으로 달성하였다. 연구 초기에는 극지 이끼 유래 테르페노이드 생합성 연구를 위한 기반 구축에 중점을 두었고, 이후 효소 기능 규명과 생산 가능성 검증으로 연구 범위를 확장하는 방식으로 연구가 진행되었다.

1차 연도에는 남극낫깃털이끼 전장 유전체 확보를 위한 롱리드 시퀀싱과 전사체 데이터 분석을 통해 고품질 유전체 정보를 구축하는 것을 주요 목표로 설정하였다. 이를 통해 반복 서열이 많은 극지 이끼 유전체의 구조를 안정적으로 조립하고, 테르펜 합성효소 후보 유전자를 포함한 주요 유전자군을 체계적으로 주석화하였다. 이 단계에서 확보된 유전체 정보는 이후 모든 기능유전체 연구의 핵심 기반으로 활용되었다.

2차 연도에는 구축된 유전체 정보를 활용하여 테르펜 합성효소 후보 유전자를 선별하고, 주요 후보에 대한 기능 검증을 수행하는 데 연구 역량을 집중하였다. SuTPS7(SuMTPSL2)을 포함한 핵심 후보 유전자를 식물 및 미생물 발현 시스템에 도입하여 효소 활성을 분석하였으며, GC-MS 기반 대사산물 분석을 통해 세스퀴테르펜 합성 기능을 실험적으로 입증하였다. 이는 극지 이끼 유래 효소의 생화학적 기능을 직접 규명한 성과로서, 연구목표 달성의 핵심 지점이라 할 수 있다.

3차 연도에는 추가 후보 유전자 발굴과 더불어 생산 가능성 검증에 연구 초점을 두었다. 재구축된 유전체 및 환경 조건별 전사체 분석을 통해 새로운 테르펜 합성효소 후보를 발굴하였고, 그중 SuMTPSL3의 효소 기능을 새롭게 규명하였다. 또한 담배 잎 일시적 과량발현 시스템을 구축하여 극지 이끼 유래 효소를 이용한 테르페노이드 생산 가능성을 평가함으로써, 기능 규명에서 응용 단계로의 확장을 달성하였다.

이와 같이 본 연구는 유전체 정보 구축, 효소 기능 규명, 생산 가능성 검증이라는 단계적 연구목표를 체계적으로 수행하였으며, 당초 설정한 연구개발 목표를 대부분 달성하거나 상회하는 성과를 도출하였다.

제 2 절 대외기여도

본 연구의 대외기여도는 학문적 기여, 기술적 기여, 그리고 극지 생물자원 활용 측면에서의 기여로 구분하여 평가할 수 있다.

학문적 측면에서 본 연구는 극지 이끼류를 대상으로 테르펜 합성효소의 기능을 분자 및 생화학적 수준에서 규명한 선도적 연구로 평가된다. 특히 남극 식물 유래 테르펜 합성효소의 효소 활성을 직접 검증한 사례는 매우 제한적이며, 본 연구는 극지 식물 자원의 이차대사 연구 분야를 실질적으로 확장하는 계기를 마련하였다. 연구 결과는 국제 학술지에

게재되어 국내외 연구자들에게 공유되었으며, 극지 생물의 대사적 다양성에 대한 이해를 심화시키는 데 기여하였다.

기술적 측면에서는 극지 이끼 유전체 정보 구축과 이를 활용한 기능유전체 분석 전략을 제시함으로써, 향후 극지 생물자원을 대상으로 한 유사 연구의 표준적 접근 모델을 제공하였다. 롱리드 시퀀싱과 전사체 데이터를 결합한 유전체 재구축, 생물정보학 기반 후보 유전자 선별, 식물·미생물 발현 시스템을 이용한 교차 검증 전략은 다른 극지 생물 자원 연구에도 직접적으로 적용 가능하다는 점에서 기술적 파급효과가 크다.

또한 본 연구는 극지유전체 정보가 단순한 데이터 축적에 머무르지 않고, 실제 활용 가능한 유전자원으로 전환될 수 있음을 실험적으로 입증하였다. 이는 극지연구소를 중심으로 추진되는 극지유전체 연구의 활용도를 제고하고, 향후 극지 생물자원 기반 바이오소재 개발 연구의 방향성을 제시하는 데 중요한 기여를 한다. 나아가 본 연구 성과는 향후 합성 생물학, 대사공학, 천연물 기반 산업 연구로의 확장 가능성을 제시함으로써, 관련 분야 전반의 기술 발전에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.



제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절 추가 연구의 필요성 및 후속 연구 방향

본 연구를 통해 남극낫깃털이끼 유래 테르펜 합성효소와 관련 유전체 정보가 확보되고, 일부 핵심 효소의 기능이 실험적으로 규명되었으나, 극지 생물자원의 잠재력을 충분히 활용하기 위해서는 추가적인 후속 연구가 필요하다. 본 연구에서 규명된 SuTPS7(SuMTPSL2) 및 SuMTPSL3 이외에도 다수의 테르펜 합성효소 후보 유전자가 존재함이 유전체 분석을 통해 확인되었으며, 이들 효소의 기능과 상호작용을 체계적으로 규명할 필요가 있다. 특히 복수의 테르펜 합성효소가 조합적으로 작용하여 다양한 테르페노이드가 생성될 가능성이 제기된 만큼, 다중 효소 기반 생합성 네트워크 규명은 중요한 후속 연구 주제가 될 수 있다.

또한 본 연구에서는 주로 단일 효소 수준에서의 기능 검증과 생산 가능성 평가가 이루어졌으나, 실제 산업적 활용을 위해서는 대사경로 전반에 대한 이해와 최적화가 필요하다. 극지 이끼 유래 테르펜 합성효소를 중심으로 상위 및 하위 대사경로를 재구성하고, 전구체 공급, 경쟁 경로 억제, 효소 발현 수준 조절 등을 포함한 대사공학적 접근이 요구된다. 이러한 후속 연구는 미생물 기반 생산 플랫폼 또는 식물 기반 생산 시스템으로 확장 가능하며, 고수율·고안정성 테르페노이드 생산 기술 개발로 이어질 수 있다.

아울러 극지 환경에 적응한 효소의 구조적·기능적 특성에 대한 심층 분석 역시 중요한 후속 연구 과제이다. 저온 환경에서도 활성을 유지하는 효소의 특성은 에너지 효율이 높은 산업 공정 개발에 활용될 수 있으며, 단백질 공학을 통한 효소 개량 연구로도 확장될 수 있다. 이러한 연구는 극지 생물자원의 차별적 가치를 보다 명확히 부각시키는 데 기여할 것이다.

제 2 절 타 연구 및 학문 분야로의 응용 가능성

본 연구 성과는 테르페노이드 생합성 연구 분야를 넘어 다양한 학문 및 기술 분야로의 확장이 가능하다. 우선 기능유전체학 측면에서는 극지 생물 유전체 정보를 활용하여 특정 대사 기능을 규명하는 연구 전략의 모범 사례로 활용될 수 있다. 본 연구에서 적용한 유전체 기반 후보 유전자 발굴과 다중 발현 시스템을 통한 교차 검증 전략은 극지 생물뿐만 아니라 비모델 식물 전반에 적용 가능한 연구 접근법이다.

진화생물학 및 분자진화 연구 측면에서도 본 연구 성과는 중요한 활용 가치를 가진다. 극지 이끼에서 관찰된 테르펜 합성효소 유전자 배열 구조와 기능적 특성은 식물 테르펜 합성효소의 진화 과정과 환경 적응 전략을 이해하는 데 중요한 자료가 될 수 있다. 특히 극한 환경에서의 대사경로 진화에 대한 연구는 생물의 적응 메커니즘을 이해하는 데 기여할 것으로 기대된다.

또한 본 연구 결과는 합성생물학 및 시스템생물학 분야와도 밀접하게 연계될 수 있다. 극지 이끼 유래 효소를 모듈 단위로 활용하여 인공 대사경로를 설계하고, 다양한 숙주 시스

템에서의 발현 특성을 비교·분석하는 연구로 확장될 수 있다. 이는 신규 생합성 경로 설계 및 천연물 다양성 확장이라는 합성생물학의 핵심 목표와도 부합한다.

제 3 절 기업화 추진방안 및 산업적 활용 가능성

본 연구에서 확보한 테르펜 합성효소 및 유전체 정보는 고부가가치 테르페노이드 기반 산업으로의 기업화 가능성을 지닌 핵심 자산이다. 특히 아모르파디엔과 같은 세스퀴테르펜은 의약품 전구체, 향료 및 화학소재로서 활용도가 높아, 안정적인 생물학적 생산 시스템 구축 시 높은 산업적 파급효과가 기대된다.

기업화 추진을 위해서는 우선 본 연구 성과를 기반으로 한 지식재산권 확보가 필요하다. 규명된 극지 이끼 유래 테르펜 합성효소의 유전자 서열, 기능, 활용 방법에 대한 특허 출원을 통해 기술적 독점성을 확보하고, 이후 산업체와의 기술이전 또는 공동 연구 형태로 기업화 전략을 추진할 수 있다. 특히 기존 테르펜 합성효소 대비 차별적인 효소 특성을 강조함으로써 산업적 경쟁력을 확보할 수 있을 것으로 기대된다.

산업적 활용 측면에서는 미생물 기반 발효 공정과 식물 기반 생산 시스템을 병행하여 적용 가능성을 검토할 수 있다. 미생물 생산 시스템은 대량 생산과 공정 제어에 유리하며, 식물 기반 시스템은 복합 대사산물 생산에 장점을 가진다. 본 연구에서 구축한 담배 잎 일시적 과량발현 시스템은 향후 안정적 형질전환 식물 개발로 확장 가능하며, 고부가가치 천연물 생산을 위한 새로운 생산 플랫폼으로 활용될 수 있다.

더 나아가 본 연구 성과는 극지 생물자원을 활용한 바이오산업 육성 정책과도 연계될 수 있다. 극지연구소 및 관련 기관과의 협력을 통해 극지 생물자원 기반 기술의 산업적 활용 사례를 창출하고, 향후 국가 차원의 극지 바이오자원 연구 및 산업화 전략 수립에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1 절 테르페노이드 생합성 연구의 국제적 동향

테르페노이드는 전 세계적으로 가장 방대한 구조적 다양성을 가지는 천연물 계열로, 의약·향료·농업·화학 산업 전반에서 핵심적인 역할을 하고 있다 (Gershenzon and Dudareva, 2007). 이에 따라 국제적으로 테르페노이드 생합성 경로 및 테르펜 합성효소 (Terpene synthase, TPS)에 대한 연구는 오랜 기간 지속되어 왔으며, 최근에는 합성생물학 및 대사공학 기술의 발전과 함께 새로운 국면을 맞이하고 있다.

해외 연구에서는 개뽕쭉(*Artemisia annua*) 유래 아모르파디엔 합성효소를 중심으로 한 향말라리아제 전구체 생산 연구가 대표적인 사례로 자리 잡고 있으며 (Ro et al., 2006), 이를 계기로 다양한 식물 유래 테르펜 합성효소의 기능 규명과 미생물 기반 생산 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 *Escherichia coli*와 *Saccharomyces cerevisiae*를 숙주로 활용한 대사경로 재구성 연구는 산업적 확장 가능성을 보여주고 있다.

최근에는 단일 효소 기능 규명을 넘어, 다중 효소 조합을 통한 복합 테르페노이드 생합성 네트워크 규명 연구가 증가하고 있다 (Lanier et al., 2023). 이러한 흐름은 테르펜 합성효소가 단독으로 작용하기보다는, 여러 효소가 단계적으로 또는 병렬적으로 작용하여 물질의 다양성과 수율을 조절한다는 인식에 기반하고 있다.

제 2 절 테르펜 합성효소의 구조·기능 및 진화 연구 동향

해외 학계에서는 테르펜 합성효소의 아미노산 서열, 보존된 촉매 모티프, 단백질 3차원 구조를 기반으로 효소 기능을 예측하고 비교하는 연구가 활발히 이루어지고 있다 (Whitehead et al., 2023). 특히 X-ray crystallography 및 cryo-EM 분석을 통해 테르펜 합성효소의 반응 메커니즘을 분자 수준에서 이해하려는 시도가 증가하고 있다.

이와 함께 단백질 구조 예측 기술의 발전은 TPS 효소 연구에 큰 변화를 가져왔다. AlphaFold와 같은 인공지능 기반 구조 예측 기술은 실험적 구조 규명이 어려운 신규 효소에 대해서도 비교적 정확한 구조 정보를 제공함으로써, 기능 예측 및 돌연변이 설계 연구를 가속화하고 있다. 해외 연구에서는 이러한 구조 예측 정보를 활용하여 기질 특이성 결정 잔기, 생성물 다양성 조절 잔기 등을 규명하는 연구가 보고되고 있다 (Samusevich et al., 2024).

진화적 관점에서는 테르펜 합성효소 유전자군의 확장과 배열 구조가 생물 종 특이적 대사산물 다양성과 밀접하게 연관되어 있음이 제시되고 있다. 특히 특정 환경에 적응한 식물에서 TPS 유전자군의 중복, 재배열, 기능 분화가 관찰된다는 보고가 증가하고 있으며 (Jia et al., 2022), 이는 극지 환경에 적응한 이끼류에서도 유사한 현상이 존재할 가능성을 시사한다.

제 3 절 극지 생물 유래 효소 및 유전체 연구 동향

극지 생물 연구는 전통적으로 환경 적응 메커니즘 규명에 초점이 맞추어져 왔으며, 저온 적응, 단백질 안정성, 막 구조 변화 등에 대한 연구가 주를 이루어 왔다. 최근에는 극지

미생물 및 식물의 유전체 시퀀싱이 증가하면서, 극지 생물의 유전자 구성과 대사적 잠재력에 대한 이해가 점차 확대되고 있다.

해외에서는 극지 미생물 유래 저온 활성 효소(cold-active enzymes)에 대한 연구가 비교적 활발히 진행되어 왔으며, 이들 효소가 에너지 효율적인 산업 공정에 활용될 수 있다는 가능성이 제시되고 있다 (Cavicchioli et al., 2011). 반면 극지 식물, 특히 이끼류를 대상으로 한 기능유전체 및 대사경로 연구는 매우 제한적인 상황이다. 일부 연구에서 극지 이끼의 전사체 분석 결과가 보고되었으나, 이를 기반으로 특정 대사산물 생합성 효소의 기능을 실험적으로 규명한 사례는 드물다.

이러한 국제적 연구 환경 속에서 본 연구는 극지 이끼 유래 테르펜 합성효소의 기능을 실험적으로 규명한 사례로서, 해외 연구 동향의 공백을 메우는 역할을 한다고 평가할 수 있다.

제 4 절 합성생물학 및 대사공학 기술 트렌드

최근 해외 연구 동향에서 가장 두드러지는 변화는 테르페노이드 생합성 연구가 합성생물학 및 대사공학 기술과 밀접하게 결합되고 있다는 점이다. 단일 효소의 기능 규명에 머무르지 않고, 전체 대사경로를 모듈화하여 인공적으로 재설계하려는 시도가 증가하고 있다. 해외 선도 연구에서는 테르펜 합성효소를 모듈 단위로 분리하여 다양한 숙주 시스템에 조합하고, 전구체 공급 경로를 조절함으로써 생성물의 종류와 수율을 정밀하게 제어하는 연구가 보고되고 있다 (Moses et al., 2013). 또한 CRISPR 기반 유전자 편집 기술을 활용하여 경쟁 경로를 제거하거나, 전사 조절 인자를 조작하는 방식도 활발히 연구되고 있다 (Das et al., 2024).

본 연구에서 확보한 극지 이끼 유래 테르펜 합성효소는 이러한 합성생물학적 접근에 적용 가능한 신규 효소 자원으로, 해외 기술 트렌드와의 연계 가능성이 매우 높다.

제 5 절 본 연구에의 반영 및 시사점

연구 수행 과정에서 수집한 해외 과학기술 정보는 본 연구의 실험 설계 및 해석 전반에 적극적으로 반영되었다. 테르펜 합성효소 후보 유전자 선별 시 해외 연구에서 확립된 보존 모티프 분석 기준을 적용하였으며, 효소 기능 검증 전략 역시 국제적으로 널리 활용되는 식물·미생물 이중 발현 시스템을 참고하여 설계하였다.

또한 극지 생물 연구가 주로 환경 적응 분석에 치중되어 있다는 해외 동향을 고려하여, 본 연구에서는 기능 검증과 활용 가능성 평가에 중점을 두으로써 차별화된 연구 방향을 설정하였다. 이러한 접근은 극지유전체 연구가 단순한 정보 축적을 넘어 실질적 활용 단계로 전환될 수 있음을 보여주는 사례로 활용될 수 있다.

종합적으로 본 연구에서 수집·분석한 해외 과학기술 정보는 향후 극지 생물자원 기반 연구의 방향성을 제시하며, 국제 공동연구 및 후속 과제 기획을 위한 중요한 참고 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

제 7 장 참고문헌

- Cavicchioli R, Charlton T, Ertan H, Omar SM, Siddiqui KS, Williams T (2011). Biotechnological uses of enzymes from psychrophiles. *Microbial biotechnology*, 4(4), 449-460.
- Chen F, Tholl D, Bohlmann J, Pichersky E (2011) The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. *Plant J* 66 (1):212-229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04520.x>
- Das S, Kwon M, Kim JY (2024). Enhancement of specialized metabolites using CRISPR/Cas gene editing technology in medicinal plants. *Frontiers in plant science*, 15, 1279738.
- Gershenzon J, Dudareva N (2007) The function of terpene natural products in the natural world. *Nat Chem Biol* 3 (7):408-414. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.5>
- Jia QD, Brown R, Köllner TG, Fu JY, Chen XL, Wong GKS, Gershenzon J, Peters RJ, Chen F (2022) Origin and early evolution of the plant terpene synthase family. *Proc Natl Acad Sci USA* 119 (15). <https://doi.org/10.1073/pnas.2100361119>
- Lanier ER, Andersen TB, Hamberger B (2023). Plant terpene specialized metabolism: complex networks or simple linear pathways?. *The Plant Journal*, 114(5), 1178-1201.
- Moses T, Pollier J, Thevelein JM, Goossens A (2013). Bioengineering of plant (tri) terpenoids: from metabolic engineering of plants to synthetic biology in vivo and in vitro. *New Phytologist*, 200(1), 27-43.
- Paddon CJ, Westfall PJ, Pitera DJ, Benjamin K, Fisher K, McPhee D, Leavell MD, Tai A, Main A, Eng D, Polichuk DR, Teoh KH, Reed DW, Treynor T, Lenihan J, Fleck M, Bajad S, Dang G, Dengrove D, Diola D, Dorin G, Ellens KW, Fickes S, Galazzo J, Gaucher SP, Geistlinger T, Henry R, Hepp M, Horning T, Iqbal T, Jiang H, Kizer L, Lieu B, Melis D, Moss N, Regentin R, Secrest S, Tsuruta H, Vazquez R, Westblade LF, Xu L, Yu M, Zhang Y, Zhao L, Lievens J, Covello PS, Keasling JD, Reiling KK, Renninger NS, Newman JD (2013) High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. *Nature* 496 (7446):528-532. <https://doi.org/10.1038/nature12051>
- Ro DK, Paradise EM, Ouellet M, Fisher KJ, Newman KL, Ndungu JM, Ho KA, Eachus RA, Ham TS, Kirby J, Chang MCY, Withers ST, Shiba Y, Sarpong R, Keasling JD (2006) Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature* 440 (7086):940-943. <https://doi.org/10.1038/nature04640>
- Samusevich R, Hebra T, Bushuiev R, Engst M, Kulhánek J, Bushuiev A, Smith JD, Čalounová T, Smrčková H, Molineris M, Schwartz R, Tajovská A, Perković M, Chatpatanasiri R, Kampranis SC, Major DT, Sivic J, Pluskal, T. (2024). Structure-enabled enzyme function prediction unveils elusive terpenoid biosynthesis in archaea. *bioRxiv*, 2024-01
- Westfall PJ, Pitera DJ, Lenihan JR, Eng D, Woolard FX, Regentin R, Horning T, Tsuruta H, Melis DJ, Owens A, Fickes S, Diola D, Benjamin KR, Keasling JD, Leavell MD, McPhee DJ, Renninger NS, Newman JD, Paddon CJ (2012) Production of amorphadiene in yeast, and its conversion to dihydroartemisinic acid, precursor to the antimalarial agent artemisinin. *Proc Natl Acad Sci USA* 109 (3):111-118. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110740109>
- Whitehead JN, Leferink NGH, Johannissen LO, Hay S, Scrutton NS (2023) Decoding Catalysis by Terpene Synthases. *Acs Catal* 13 (19):12774-12802. <https://doi.org/10.1021/acscatal.3c03047>

주 의

1. 이 보고서는 극지연구소 위탁과제 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 위탁연구과제로 수행한 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.