Proc. Plant Biotechnol. Symp.
Vol. 1 : 63 - 79 (1987)

빛에 의한 식물 유전자의 발현

한 태 룡
(경희대학교 자연과학대학 유전공학과)

Light Regulated Plant Gene Expression

Hahn, Tae-Ryong
(Dept. of Genetics, Kyung Hee University, Suwon, Korea)

Abstract

Light regulates a variety of genes in higher plants. The expression of light-induced plant genes is regulated at the level of transcription via red- light photomorphogenic receptor, phytochrome, as well as unknown blue light photoreceptor(s). Ribulose-5-phosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) small subunit (SSB) and light harvesting chlorophyll a/b (Cab) protein are those of the best understood genes regulated by light. 5'-upstream flanking sequence (- -400) of Rubisco SSB and Cab genes is known as a light responsive, enhance-like element. It responses to red and blue light in transgenic plant system as a tissue specific manner. Phytochrome gene is also regulated by light. In contrast to most of the light regulated plant genes, it is negatively controlled by red light. Search for the cis- and trans-acting factors responsible for the light signal is in progress to understand photomorphogenesis and development in higher plants.

서 론

식물은 빛을 광합성의 주 에너지원으로 사용할 뿐 아니라, 생장과 분화를 조절하는 신호로도 사용 한다. 식물은 생장환경, 특히 빛의 양과 질에 민감하게 반응한다 (Kendrick and Frankland, 1983). 이것은 식물이 한 장소에서 일생을 보내야 하므로, 생장과 분화를 적절한 시기와 방법으로 하지 못할 경우 생존할 수 없기

때문이다. 식물은 동물보다 훨씬 민감하게 빛을 감지하며, 적색광의경우 $3x10^4$ 광자/cm^2/초 (동물의 시각은 10^{10} 광자/cm^2/초) 까지 감지한다 (Song, 1983). 고등식물은 적색광, 청색광 그리고 자외선광에 민감한 적어도 세 종류의 광분화에 관련된 광수용체 (photoreceptor) 를 가지고 있는 것으로 믿어지고 있으나, 아직도 q 색광-근적외적색광 (red light - far red light) 수용체인 phytochrome 외에는 그 분자적 성질이 자세히 밝혀진 바 없다 (Hahn and Song, 1981; Hahn, 1983; Hahn and Chae, 1986; Tobin and Silverthrone, 1985).

일반적으로 고등식물의 광형태적 (photomorphogenic), 분화적 반응은 두 종류로 나누어 생각할 수 있다 (그림 1) (Hahn, 1983; Hahn and Chae, 1986). 첫째, 수 초 또는 수 분 이내에 일어나는 빠른 반응으로 이 반응은 energy transduction 에 의해

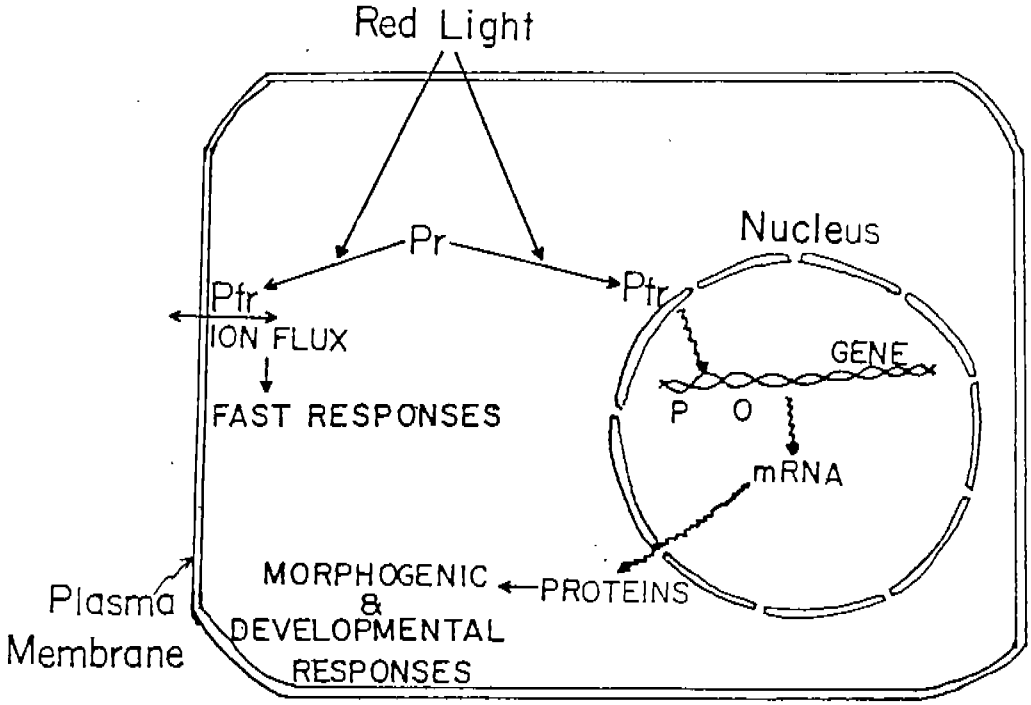

Fig. 1. Possible actions of phytochrome in plant cell. The physiologically active, Pfr form of phytochrome associates with nuclear and/or protoplast membranes to transduce fast resoponses or to activate dormant gene expression in higher plants.

유도된다. 즉 phytochrome 등 광수용체에 의해 흡수된 광 에너지는 세포막 potential 또는 ion flux 를 변화시키는 등 그 에너지를 다른 형태의 신호로 바꾸는 것이다. 이러한 형태의 반응으로 가장 잘 알려진 예로는 phytochrome 에 의한 미모사의 잎운동과 *Mougeotia* 의 엽록체 운동이 있다 (Haupt, 1973). 둘째, 수 시간 또는 수 일이 소요되는 느린 반응으로 식물의 발아, 생장, 분화, 개화, 결실 등 대부분의 광분화 작용이 이에 해당한다. 이러한 느린 반응은 광수용체에 전달된 광 신호가 chromosome 의 휴면 유전자 발현을 유도하므로서 야기되며, Schopfer (1977) 는 phytochrome 에 의해 조절되는 총 52종류의 식물효소를, Lamb and Lawtom (1983) 은 빛에 의해 조절되는 총 61종류의 식물효소를 열거한 바 있다.

본고에서는 빛에 의한 식물유전자의 발현기작을 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase /oxygenase (Rubisco) small subunit 유전자, light-harvesting chlorophyll a /b 단백질 (Cab) 유전자 및 phytochrome 유전자를 중심으로 알아 보고자 한다.

본 론

1. 빛에 의한 식물 유전자의 발현조절

빛에 의한 식물유전자의 발현은 주로 transcription 수준에서 조절되는 것으로 알려져 있다 (Tobin and Silverthorn, 1985). Translation 수준에서의 연구는 ribosome 의 활성이 적생광 조사에 의해 증가된다는 보고 (Travis *etal.*, 1974; Willams and Novelli, 1968) 가 있을 뿐이다. 빛은 nuclear 유전자는 물론 chloroplast 유전자의 발현도 조절한다. 이중 가장 잘 알려진 예로는 nuclear 유전자로 ribulose- 1,5-

bisphosphate carboxylase-oxygenase small subunit (Rubisco SSB) 유전자와 light harvesting chlorophyll a/b 단백질 (Cab) 유전자가 있으며, chloroplast 유전자로 Rubisco large subunit (LSU) 유전자와 photosystem II 에 관여하는 32kD thylakoid membrane 단백질이 있다 (Tobin and Silverthorne, 1985; Fluhr *et al.* 1986).

이상 열거한 유전자들과 같이 대부분의 광유전자 (photogene) 는 빛에 의해 transcription 이 촉진되는 반면 몇몇 유전자들은 빛에의해 그 발현이 감소되기도 하는데, 대표적인 예로 phytochrome 유전자 (Colbert *et al.*, 1983; Otto *et al.*,1984) 와 NADP : photochlorophyllide oxidoreductase 유전자 (Apel, 1981) 가 있다. 이 두 유전자의 mRNA 는 적색광 조사에 의해 감소되고 근적외적색광 조사 혹은 암소처리에 의해 증가한다. 표1 과 표2에 백색광 및 phytochrome 에 의해 조절되는 식물 유전자중 transcription 수준에서 연구된 결과를 요약하였다.

빛에 의한 mRNA 양의 증감은 transcription 속도변화에 의해서 일어날 수 있을 뿐만 아니라 생성된 transcripts의 안정성 변화에 의해서도 이루어 질 수 있다. Gallagher and Ellis (1982)는 암소에서 키운 완두잎으로부터 핵을 분리한 후 빛조사에 따른 Rubisco SSB 및 Cab mRNA 생성량을 조사한 바 mRNA 증가는 주로 transcription 속도의 증가에서 기인된 것임을 알 수 있었다. 한편 Silverthrone and Tobin (1984)는 Lumna 의 Rubisco ssb 및 Cab 유전자의 transcription 속도가 적색광/근적외적색광에 의해 조절됨을 보여주고 있다. 따라서 빛에 의한 식물 유전자의 발현은 transcription 속도 조절에 의해 이루어 지며 적색광 수용체인 phytochrome 은 물론, 아직도 그 정체가 밝혀진 바 없는 청색광-자외선광 수용체도 관여할 것으로 믿어진다 (Fluhr *et al.*, 1986).

2. Rubisco SSU 및 Cab 유전자의 광조절기작

Rubisco는 광합성의 암반응, 즉 Calvin cycle 의 핵심효소로서 탄산가스를

Table 1. Genes expressed differently in white light and dark grown plants (Tobin and Silverthorne, 1984)

Protein	Species	Method of Measurement
multiple different unidentified polypeptides	*Lemna gibba*	mRNA translation
	Hordeum vulgare	DNA-RNA hybridization
	Pisum sativum	mRNA translation
		DNA-RNA hybridization
		hybridizable RNA
multiple chloroplast polypeptides	*Sinapis alba*	hybridizable RNA
	Hordeum vulgare	hybridizable RNA
	Zea mays	hybridizable RNA
Rubisco SSU	*Lemna gibba*	mRNA translation
	Pisum sativum	mRNA translation
		hybridizable RNA
		in vitro transcription
		in vivo pulse labeling
	Nicotiana sylvestris	mRNA translation
	Glycine max	hybridizable RNA
	Zea mays	hybridizable RNA
Rubisco LSU	*Pisum sativum*	hybridizable RNA
		mRNA translation
		in vivo pulse labeling
	Zea mays	hybridizable RNA
	Spirodela oligorhiza	hybridizable RNA
chl *a/b* apoprotein	*Hordeum vulgare*	mRNA translation
	Lemna gibba	mRNA translation
	Pisum sativum	mRNA translation
		in vitro transcription
	Zea mays	hybridizable RNA
32 kD thylakoid membrane protein	*Zea mays*	hybridizable RNA
phosphoenol pyruvate carboxylase	*Zea mays*	mRNA translation
		hybridizable RNA
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (cytosolic form)	seven species	mRNA translation
phytochrome	*Avena sativa*	mRNA translation
NADP malic enzyme	*Zea mays*	mRNA translation
pyruvate orthophosphate dikinase	*Zea mays*	hybridizable RNA

Table 2. Genes demonstrated to be regulated by phytochrome (Tobin and Silverthorne, 1984)

Protein	Species	Method of Measurement
Rubisco SSU	*Lemna gibba*	mRNA translation hybridizable RNA in vitro transcription
	Pisum sativum	mRNA translation hybridizable RNA
	Vigna radiata	hybridizable RNA
Rubisco LSU	*Pisum sativum*	hybridizable RNA
chl *a/b* apoprotein	*Hordeum vulgare*	mRNA translation hybridizable RNA in vitro transcription
	Lemna gibba	mRNA translation hybridizable RNA in vitro transcription
	Pisum sativum	hybridizable RNA
	Vigna radiata	hybridizable RNA
rRNA	*Sinapis alba*	in vivo labeling
	Pisum sativum	hybridizable RNA
	Lemna gibba	in vitro transcription
	Hordeum vulgare	in vitro transcription
NADPH-protochlorophyllide reductase	*Hordeum vulgare*	mRNA translation hybridizable RNA in vitro transcription
phytochrome	*Avena sativa*	mRNA translation
32 kD thylakoid membrane protein	*Sinapis alba*	hybridizable RNA
	Pisum sativum	hybridizable RNA

고정하여 한 분자의 ribulose-1,5-bisphosphate 를 두 분자의 3-phosphoglycerate 로 전환한다. 또한 Rubisco는 탄산가스가 부족한 조건에서 oxygenase 로 작용하여 ribulose-1,5-bisphosphate를 3-phosphoglycerate로 전환하는 광호흡 (photorespiration) 반응에도 관여한다. Rubisco는 엽록체의 thylakoid 막의 stroma쪽 표면에 존재하며, 엽록체 총단백질의 약 16 %를 차지한다. 이 효소는 촉매반응에 관여하는 8개의 large subunit (LSU, 55kD)와 반응조절에 관여하는 8개의 small

subunit (SSU, 15kD)로 구성되어 있으며 LSU는 엽록체 DNA 에, SSU 는 핵 DNA 에 암호화 되어있다. 이 효소는 광합성의 명반응 결과 조성되는 stroma 내의 NADPH 증가, pH 증가 및 Mg^{2+}증가등에 의해 활성화될 뿐 아니라, 빛에 의해 그 발현이 전사단계에서 촉진된다 (Miziorko and Lorimer, 1983; Coruzzi *et al.* 1984). Rubisco LSU는 엽록체 DNA 당 한개의 copy로 존재하여 엽록체당 10-100 copy로, 식물세포당 500-10,000 copy로 존재하며, SSU는 chromosome 당 6-12 copy의 multigene family로 존재한다 (Coruzzi *et al.*,1984). Rubisco SSU multigene family는 동일한 coding sequence를 가지고 있으나 5' upstream 부분 및 3'downstream의 noncoding 부분의 염기서열에서 현저한 차이를 보인다. 따라서 5'혹은 3'noncoding 부분을 이용하여 multigene family 중 특정 유전자의 발현을 전사단계에서 알아낼 수 있을 뿐아니라, clone 된 유전자를 다른 식물에 도입한 후 발현 여부를 Northern blot 방법으로 알 수도 있다 (Broglie *et al.*, 1984; Nagy *et al.*, 1985). 전형적인 완두 Rubisco SSB의 유전자 구조를 보면 (Coruzzi *et al.*, 1984), 3개의 exon과 2개의 intron으로 구성되어 있다. Exon 1은 57개의 아미노산으로 구성된 transit peptide를 encode 하고 있으며 이 peptide는 엽록체 내부로의 이동에 필요한 signal peptide로서 이동중 제거된다. S1 nuclease mapping 방법에 의해 밝혀진 transcription start site의 -32 upstream에 TATA box 가 있고 -85에 CAAT box가 관찰된다. 또한 transcript의 3' 끝의 20 nucleotide upstream에는 polyadenylation 신호로 보이는 AATGAA sequuence가 존재한다. Rubisco SSB는 완두의 잎, 과피, 화판 및 씨에서 빛에 의해 발현되며 단백질과 mRNA 수준에서 일치하는 결과를 보여주고 있다 (Coruzzi *et al.*, 1984).

최근 Rockefeller 대학의 Chua group을 중심으로 완두의 Rubisco SSU 유전자와 Cab 유전자를 이용하여 담배 및 페튜니아세포에 도입한 다음 빛에 의해 발현이 조절되는 5'-upstream sequence 를 조사한 바 있다 (Broglie *et al*, 1984; Fluhr

et al., 1986). 이들은 완두의 Rubisco SSB 유전자 (pPS 4.0)를 Ti intermediate vector(pMON145)에 clone 한 후 clone 된 pMON174를 triparental mating 방법으로 *Agarobacterium tumefaciens*에 옮긴다음 페튜니아 세포로 도입하였다. 도입된 페튜니아 세포를 callus culture 하여 얻은 transformed calli에서 완두의 Rubisco SSB (pPS 4.0) 유전자의 발현을 Northern blot법으로 분석한 결과, -1052의 5'upstream sequence를 가진 pPS4.0 유전자는 transcription 이 빛에 의해 20-50배 증가되며, 정확하게 splice 되고 polyadenylate 됨을 알 수 있었다 (Broglie *et al.*, 1984). 이들은 또한 광유도 활성에 필요한 5'조절부분을 보다 정확히 분석하기 위해 여러종류의 5'deletion mutant와 CAAT box를 제거시킨 internal deletion mutant를 사용하여 같은 system에서 조사하였는데, 5'upstream 부분이 결실됨에 따라 광유도 활성이 점차 감소하는 경향을 보이고 있으나, -35 - -2의 TATA box 를 포함한 33 bp fragment가 이 유전자의 callus 세포에서의 광유도 활성에 핵심적으로 작용함을 알 수 있었다 (Morelli *et al.*, 1985). 다른 종류의 완두 Rubisco SSB 유전자 (SS 3.6)를 이용한 비슷한 실험에서는 -90 deletion mutant가 낮은 수준이기는 하나 광유도 활성을 가지고 있었다 (Timpko *et al.*, 1985). Callus 세포를 이용한 이상과 같은 실험은 암소에서 기른 callus 에 빛을 조사한후 5-10 일이 경과된 후에야 mRNA 양이 증가하는 등 빛에 대한 반응이 대단히 느리게 나타나고, 빛 조사후 callus의 세포분화가 Rubisco SSB의 광유도 활성과 거의 동시에 일어나므로 두 현상을 구별하기 어렵고, callus 세포에서는 도입된 유전자의 발현을 기관 특이적인 측면에서 조사할 수 없는 등 여러가지 문제점이 있다. 따라서 Rubisco SSB 유전자의 광유도 활성 기작을 보다 정확하게 알아내기 위해서는 동일한 실험을 도입된 식물세포를 완전한 식물로 regeneration 시킨 transgenic plant system 에서 확인할 필요가 있다.

Nagi 등 (1985) 은 완두 Rubisco SSB-pPS 4.0 (4.0 kb) 유전자의 3'noncoding 끝부분의 1.6 kb (EcoRI - ClaI) fragment를 제거시킨 E-9 (2.4 kb) 유전자를

intermediate vector 인 pMON145에 clone 한 후 nononcogenic ("disarmed") Ti vector를 가진 A. tumefaciens 에 mating 시켜 페튜니아와 담배세포에 도입한후 whole plant로 regeneration 시켜 E-9 유전자의 광유도 활성을 조사하였는데, -1052 의 5'upstream 부분을 가진 완두 Rubisco SSB-E-9 유전자는 페튜니아 및 담배에서 빛에의해 발현이 조절될 뿐 아니라, 기관특이성도 가지고 있음을 알 수 있었다. 즉 E-9 유전자는 페튜니아에서 잎세포에서만 특이하게 발현하였다. 한편, -352 deletion mutant를 이용한 같은 실험에서는 10배 가량 발현이 감소한 callus 세포와는 달리 wild type 과 거의 같은 정도의 광유도 활성을 보여주고 있다. Callus 세포와 transgenic plant 세포와의 이러한 차이는 calli system에서는 다량의 phytohormone이 존재하므로 충분한 광유도 활성을 위해서는 보다 앞부분의 sequence가 필요한 것으로 생각된다 (Fluhr *et al.*, 1986). Transgenic plant system을 이용한 그 밖의 광조절 및 기관 특이성을 갖는 upstream 부분에 관한 연구로는 완두 Rubisco SSB-3A 유전자가 -410 upstream 부분이 필요하다는 Fluhr and Chua (1986)의 연구와, 완두 Cab-AB80 유전자는 -400 upsream 부분이 필수적이라는 Simpson 등 (1985)의 연구가 있다. 이러한 transgenic plant에서의 Rubisco SSB 유전자 및 Cab 유전자의 발현은 적색광-근적외적색광에 의해 조절될 뿐아니라 청색광에 의해서도 유도되므로 적색광 수용체인 phytochrome 분자는 물론 아직 밝혀진 바 없는 청색광 수용체도 관여한다고 볼 수 있다 (Fluhr and Chua, 1986; Simpson *et al.*, 1986).

Fluhr 등 (1986) 은 완두 Rubisco SSB-3A 유전자의 TATA box를 제거시킨 -327~-48 upstream sequence에 CaMV 35S promotor를 fuse 시킨 후, chloroampenicol acetyltransferase (CAT) coding sequence를 연결하여 빛에 의한 CAT의 발현을 담배에서 검색 하였다. CAT의 효소활성은 물론 CAT mRNA도 빛에 의해 크게 증가하였는데 줄기나 뿌리에 비해 잎에서 효과가 현저하였다. 이들은 비슷한

실험을 완두 Rubisco SSB-E9 유전자에 대해서도 실시하였는데 -317 ~ -82 upstream sequence 에 nopaline synthetase (NOS) promtor와 CAT를 연결한 system에서도 CAT의 발현이 빛에 의해 조절됨을 알 수 있었다. 또한 상기 두 유전자의 upstream 광조절 부분을 거꾸로 (rever orientation) 연결한 경우에도 동일한 결과가 관찰되어, 빛에 의한 Rubisco 유전자의 발현조절은 진핵생물에서 일반적으로 나타나는 enhancer와 유사한 기작에 의할 것으로 믿어진다. 참고로 Rubisco SSB -3A와 -E9 유전자의 5' upstream 광조절 부분의 염기서열을 그림2에 도시하였다. 한편 Timpko 등 (1985)은 Rubisco SSB-ss 3.6 유전자의 5' upstream 광조절 부분(-973 ~ -93)에 대한 enhancer 유사성질을 담배의 calli system 에서 밝힌 바 있다.

이상을 요약하면 Rubisco SSB 및 Cab 유전자는 -400 까지의 5' upstream 부분에 광조절과 기관 특이성을 갖는 regulatory sequence를 가지고 있으며, Rubisco SSB 유전자의 경우 적어도 두종류 이상의 중요한 조절부위가 존재하고 있는 것으로 추측된다. 즉 transformed calli에서 광조절에 핵심적으로 관여하는 TATA box 근처부위와, 보다 upstream에 위치한 광조절은 물론 기관특이적 유전자 발현에 관여하는 부위가 그것이다. 특히 후자는 orientation에 무관한 성질을 갖는등 transcription enhancer의 일반적인 특성을 보여주고있다. Rubisco SSB 유전자는 식물의 잎에서 특이하게 발현한다 (Coruzzi *et al.*, 1984). 잎세포에서도 mesophyll 세포 혹은 guard 세포에만 발현되므로 (Zemel and Gepstein, 1985), Rubisco SSB 유전자는 엽록체를 포함하고 있는 세포에서만 활성을 갖는다고 볼 수 있다. 따라서 Rubisco SSB 및 Cab 유전자의 5' upstream 부분은 잎에서는 광 및 엽록체에 의해 조절되는 enhancer 로, 뿌리에서는 기관 특이한 silencer 로 작용한다고 볼 수 있다 (Schell, 1987). 한편 지금까지 조사된 Rubisco SSB 유전자 모두가 -150 부위에 GTGTGGTTTT (AAAA) sequence 를 가지고 있으며 (그림2) 이는 SV40 enhancer core sequence 와 유사하므로 대단히 중요한 부분일 가능성이 높다 (Gelvin,

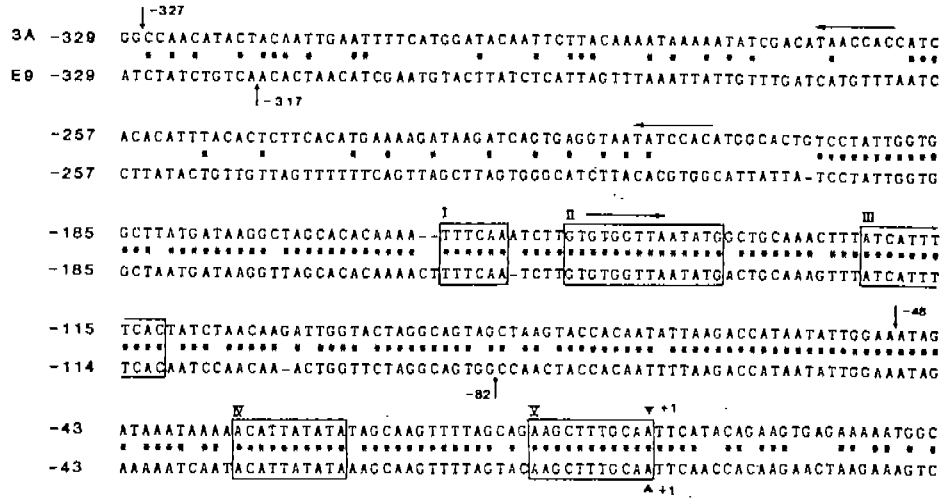

Fig. 2. Sequence comparison between the 5' flanking regions of the pea rbcS-3A and E9 genes. Identifical bases are marked by asterisks. Box IV contains the TATA box. Boundaries of the 5' upstream enhancer-like sequences of the two genes are indicated by vertical arrows. Arrows overline sequence elements that resemble of SV40 enhancer core consensus sequence (Fluhr *et al.*, 1986).

1986; Fluhr *et al.*, 1986).

3. Phytochrome 유전자의 광조절 기작

Phytochrome 은 분자량 120,000-127,000 의 dimer 로 이루어진 색소단백질로 semicircular 한 tetrapyrrole chromophore 가 apoprotein 의 cys-321 과 thioether linkage 로 공유결합하고 있다 (Hahn and Song, 1981; Hahn, 1983; Hahn and Chae, 1986; Hershey *et al.*, 1985). Phytochrome 은 적색광을 흡수하는 Pr 형과 근적외적색광을 흡수하는 Pfr 형의 상호변환 가능한 두가지 형태로 존재한다. 즉 Pr 형의 phytochrome 이 적색광 (660nm) 을 흡수하면 생리적으로 활성한 Pfr 형으로, Pfr형은 근적외적색광 (730nm) 을 흡수하면 생리적으로 불활성한 Pr 형으로 광변환 (phototransform) 되는 것이다. 식물의 광형태적, 분화적 반응의 대부분은

phytochrome 에 의해 유도되는 것으로 알려져있다 (Mohr, 1972; Kendrick and Frankland, 1983). Pfr 형 phytochrome 의 이러한 생리활성은 Pfr 은 Pr 과는 달리 소수표면이 노출되며 노출된 소수표면과 세포막 혹은 미지의 수용체 분자와의 결합에 의해 1차 신호전달이 이루어지는 것으로 믿어지고 있다 (Song *et al.*, 1979; Hahn and Song, 1981; Song, 1983; Hahn and Chae, 1986). 그러나 아직도 적색광에 의해 활성화된 Pfr 형의 phytochrome 이 과연 어떤 경로를 통해 chromosome 혹은 엽록체의 광유전자를 활성화 시키는지에 대해서는 아직도 거의 알려진 바 없다.

Phytochrome 은 빛을 흡수하여 식물의 광유전자 발현을 조절할 뿐 아니라 phytochrome 자신의 유전자 발현도 조절한다. 이러한 phytochrome 유전자의 빛에 의한 발현조절은 대부분의 다른 광유전자와는 달리 negativcly control 된다. 즉 암소에서 기른 귀리로부터 추출한 mRNA를 *in vitro* translation 하면 다량의 phytochrome 단백질이 검출되는 반면 녹엽에서 추출한 mRNA 의 *in vitro* translation 산물에는 phytochrome 단백질이 거의 검출되지 않는다 (Gottman and Schaefer, 1982). 귀리의 etiolated seedling 에 5초간 적색광을 조사한 후 translatable phytochrome mRNA 를 측정하면 15-30분 후 부터 감소하기 시작하여 약 2시간 후에는 원래의 5% 이하로 감소되며, 여기에 근적외적색광을 조사하면 translatable phytochrome mRNA 가 거꾸로 증가한다 (Colbert *et al.*, 1983). 즉 적색광을 흡수하여 생리적으로 활성한 Pfr 형의 phytochrome 은 phytochrome 자신의 유전자 발현을 transcription 단계에서 억제시키는 것이다. 빛에 대한 phytochrome 유전자 발현억제와 같은 이러한 빠른 반응은 빛에 의해 조절되는 (주로 positive control) 다른 광 유전자에서는 관찰된 바 없다. 한편 cDNA probe 를 사용한 phytochrome mRNA 의 northern blot 검색 결과를 보면 빛에 의해 조절되는 translatable phytochrome mRNA 는 mRNA 양의 증감과 직접적으로 관련되어 있음을 알 수 있다 (Colbert *et al.*, 1985; Hershey *et al.*, 1985a). 한편 비슷한 system 을 이용한 다른

연구도 동일한 결과를 보여주고 있는데 오이의 genomic library 에서 clone한 phytochrome 유전자의 발현도 적색광 및 근적외적색광에 의해 transcription 수준에서 조절된다 (Lissemore et al. 1987). 최근 Hershey 등 (1985b) 은 귀리 phytochrome 의 cDNA 및 genomic DNA 를 cloning/sequencing 하여 phytohormone apoprotein coding 부분의 아미노산 서열자료를 제시하므로써 phytochrome 분자구조 연구에 새로운 전기가 마련되었다. 특히 단백질 분해효소에 의해 쉽게 절단되어 phytochrome 단백질의 분리정제 과정중 쉽게 유실되는 N-terminal 부분의 구조가 자세히 밝혀지므로서 많은 중요한 정보를 얻을 수 있게 되었다. N-terminal 끝의 6kD peptide segment 는 chromophore 와 밀접하게 반응하고 있으며 phytochrome 의 생리활성에 중요한 역할을 하는 것으로 믿어진다 (Hahn *et al.*,-1984ab; Hahn and Chae, 1986; Vierstra *et al.*, 1987). 그러나 phytochrome 유전자의 5' upstream 부분의 분석에 의한 광조절부위의 구조와 작용기작에 관한 연구는 아직 찾아볼 수 없다.

결 론

이상 빛에 의해 조절되는 식물유전자의 발현기작을 Rubisco SSB 와 Cab 및 phytochrome 유전자를 중심으로 알아 보았다. 빛에 의해 조절되는 광유전자 발현은 주로 transcription 단계에서 조절되며, 적색광 수용체인 phytochrome 을 비롯한 청색광 수용체가 관여할 것으로 여겨진다 (Fluhr and Chua, 1986). Anthocyanin 색소의 생합성에 관여하는 chalcone synthase 유전자의 경우에는 UV-B 광이 5'-upstream 조절부분에 관여하는 것으로 알려져 있다 (Schell, 1987). 따라서 식물의 광유전자는 적색광, 청색광 및 자외선광에 민감한 적어도 세종류의 광수용체에 의해 조절되는 것으로 볼 수 있다.

식물의 광유전자중 가장 많이 연구된 것은 Rubisco SSB 유전자로 적어도 둘 이상의 cis-acting 광조절 부분이 5'-upstream 부분에 있을 것이 기대된다 (Fluhr *et al.*, 1986). 즉 transformed calli 에서 밝혀진 바와 같이 TATA box 주위의 promoter 근처 부위와 (Morelli *et al.*, 1985; Timpko *et al.*,1985), transgenic plant system 에서 밝혀진 바와 같이 TATA box 보다 upstream (-48 ~ -327) 에 위치한 transcription enhancer 와 유사한 성질을 가진 부분이 그것이다 (Fluhr *et al.*, 1986). 이러한 enhancer 유사 광조절 부분은 phytochrome 뿐만 아니라 청색광 수용체도 관여하며 (Fluhr and Chua, 1986), 기관 특이성도 갖는다 (Nagy *et al.*, 1985). 즉 잎에서도 엽록체 함유부위에만 발현되고, 뿌리에서는 발현되지 않는다. 따라서 앞으로 이 부분의 역활과 기능에 대한 보다 정밀한 연구가 요망된다.

Phytochrome 유전자는 빛에 의해 그 발현이 저해된다. 즉 적색광 (혹은 백색광) 조사에의해 transcription 이 저해되고 근적외적색광에 의해 촉진된다 (Colbert *et al.*, 1983, 1985). 따라서 phytochrome 은 빛을 흡수하여 활성화되면 (Pfr 형으로) 대부분의 광유전자 발현을 촉진하는 반면 자신의 유전자 발현은 억제한다. 즉 phytochrome 은 자신의 유전자 발현을 스스로 조절하는 (autoregulation) 희귀한 식물단백질이다. 앞으로 이 유전자의 5'-upstream 광조절 부분의 구조와 발현기작이 밝혀지면, Rubisco SSB 유전자등 빛에 의해 그 발현이 촉진되는 광조절 sequence 와 비교연구하므로서 식물의 광형태적 조절반응기작연구의 새로운 장이 열리게 되리라 믿는다.

지금까지 식물의 광형태반응에 관한 분자수준의 연구는 phytochrome 분자의 물리화학적 성질, 특히 생리적으로 활성형태인 Pfr 형의 phytochrome 과 불활성한 Pr형의 phytochrome 사이의 구조적, 기능적 차이에 관한 연구와, 광유전자의 구조와 발현, 특히 광유전자 조절부분의 구조해석연구의 두가지로 대별할 수 있다. 그러나 phytochrome 등 광수용체에 의해 흡수된 광신호가 어떤 경로를 통해 광유전자에

전달되는지에 대해서는 거의 밝혀진 바 없다. 앞으로 광수용체의 수용체분자 존재여부, 2차신호전달물질 (ie cAMP, Ca^{2+}등)의 관여여부, 광유전자의 5'upstream 조절부위와 작용하는 trans-acting factor 존재여부에 대해 보다 체계적인 연구가 요망된다.

참 고 문 헌

1. Apel,K., Eur. J. Biochem. 120, 89 (1981).
2. Broglie, R., Coruzzi, C., Fraley, R.T., Rogers, S.G., Horsch, R.B., Niedrmeyer, J.G., Fink, C.L., Flick, j.S., and Chua, N. H., Science, 224, 838 (1984).
3. Colbert, J.T., Hershey, H.P., and Quail, P.H., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 2248 (1983).
4. Colbert, J.T., Hershey, H.P., and Quail, P.H., Plant Mol. Biol. 5, 91 (1985).
5. Fluhr, R. and Chua, N. H., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 2348 (1986).
6. Fluhr, R., Kuhlemeier, C., Nagy, F., and Chua, N. H., Science, 232, 1106 (1986).
7. Gallagher, T.F. and Ellis, R.J., EMBO J., 1, 1493 (1982).
8. Gelvin, S.B., Plant Mol.Biol., 7, 229 (1986).
9. Gottman, K. and Schaefer, E., Phochem. Photobiol., 35, 521 (1982).
10. Hahn, T.-R., Ph.D. dissertation, Texas Tech Univ., Lubbock, TX (1983).
11. Hahn, T.-R. and Song, P.-S., Biochemistry, 20, 2602 (1981).
12. Hahn, T.-R. and Song, P.-S., J. Kor. Agr. Chem., 24, 267 (1981).
13. Hahn, T.-R. and Song, P._S., Biochemistry, 21, 1394 (1982).
14. Hahn, T.-R. and Chae, Q., Kor. Biochem. Soc. News, 6, 3 (1986).
15. Hahn, T.-R., Chae, Q., and Song, P.-S., Biochemistry, 23, 1219 (1984a).
16. Hahn, T.-R., Song, P.-S., Quail, P. H., and Vierstra, R. D., Plant Physiol., 74, 755 (1984b).
17. Hershey, H.P., Barker, R.F., Colbert, J. T., LIssemore, J.L., and Quail, P.H., in Molecular Form and Function of the Plant Genome. Plenum Press,

London, p101 (1985a).

18. Hershey, H.P., Barkar, R.F., Idler, K. B., Lissemore, J.L., and Quail, P.H., Nuc. Acids Res., 13, 8543 (1985b).

19. Kendrick, R.E. and Frankland, B., in Phytochrome and Plant Growth, E. Arnold Ltd., London (1983).

20. Lamb, C,J. and Lawton, M.A., in Photomorphogenesis, Shropshire, W. and Mohr, H. Eds., Springer-verlag, Berlin, p213 (1983).

21. Lissemore, J.L., Colbert, J.T., and Quial, P.H., Plant Mol. Biol., 8, 485 (1987).

22. Mohr, H., in Lectures on Photomorphogensis, Springer-V - erlag, Berlin (1972).

23. Morelli, G., Nagy, F., Fraley, R.T., Rogers, S.G., and Chua, N.-H., Nature (London), 315, 200 (1985).

24. Nagy, F., Morelli, G., Fraley, R.T., Rogers, S.G., and Chua, N.-H., EMBO J., 12, 3063 (1985).

25. M., Plant Cell Physiol., 25, 1579 (1984).

26. Schell, J.S., Science, 237 1176 (1987).

27. Schopfer, P., Ann. Rev. Plant Physiol., 28, 223 (1977).

28. Silverthorne, J. and Tobin, E.M., Proc. Natl. Acad. Sci.USA, 81, 1112 (1984).

29. Simpson, J. EMBO J., 4, 2723 (1985). 0. Simpson, J., Van Montagu, M., and Herrera-Estrella,L., Science, 233, Simpson, J., Van Montagu, M., and Herrera-Estrella,L., Science, 233, (1986).

30. Song, P.-S., in Advanced Plant Physiology (ed., M.B. Wilkins), Pitman Book Ltd., London (1983).

31. Song, P.-S., Chae, Q., and Gandner, J.G., Biochim. Biophys. Acta, 576, 479 (1979).

32. Timpko, M.P., Kausch, A.P., Castresana, C., Fassler, J., Herrera- Estrella, L., van den Broeck, G., van Montagu, M., Schell, J., and Cashmore, A.R., Nature (London), 318, 579 (1985).

33. Tobin, E.M. and Silverthrone, J., Ann. Rev. Plant Physiol., 36, 569 (1985).

34. 35. Travis, R.L., Key, J.L., and Ross, C.W., Plant Physiol., 53, 28 (1974).

35. Vierstra, R.D., Quial, P.H., Hahn, T.-R., and Song, P.-S., Photochem. Photobiol., 45, 429 (1987).

36. Williams, G.R., and Novelli, G.D., Biochem. Biophys. Acta, 155, 183 (1968). Zemel, E. and Gepstein, S., Plant Physiol., 78, 586 (1985).

저 자 약 력

한 태 룡 (韓 胎 龍) 박사

1950. 1. 18. 생
1972 서울대학교 농화학과 (농학사)
1976 한국과학원 생물공학과 (이학석사)
1983 미국 Texas공과대학 화학과 (Ph. D.)
1976 - 79 한국과학기술연구소 연구원
1983 - 85 미국 Yale대학교 분자생물리 및 생화학과 박사후과정
1985 - 현재 경희대학교 유전공학과 교수