

식물의 분화에 따른 엽록체 유전자의 발현

홍 주 봉
(한국과학기술원 유전공학센터)

Expression of Chloroplast Genes upon Plant Development

Hong, Choo Bong
(Genetic Engineering Center, K.A.I.S.T.)

Abstract

Along the developmental processes in higher plants, chloroplast follows a major route of development which is proplastid - etioplast - chloroplast. Development of chloroplast can be determined according to the expressions of the genes coded in the chloroplast DNA as well as in the chromosomal DNA. Most of the processes occurring in proplastid and etioplast seems to be coded in the chromosomal DNA, while the development of chloroplast from etioplast upon the exposure of plants to light is determined by harmonious expressions of the genes in the chloroplast and the chromosome.

서 론

고등식물의 분화는 고등식물의 DNA 상에 기록되어 있는 유전 정보와 이를 둘러싸고 있는 주위 환경 (세포 내의 환경에서 빛, 온도, 중력, 화학적인 조건 등의 외부 환경에 이르기 까지) 과의 지속적인 상호 작용에 의해 결정 된다고 할 수 있겠다. 또한 고등식물의 세포 내 기관인 엽록체의 발생도 엽록체 자신의 DNA 상에 기록된 정보와 이를 둘러싸고 있는 주위 환경 (주로 엽록체 DNA 에 기록된 정보의 발현에

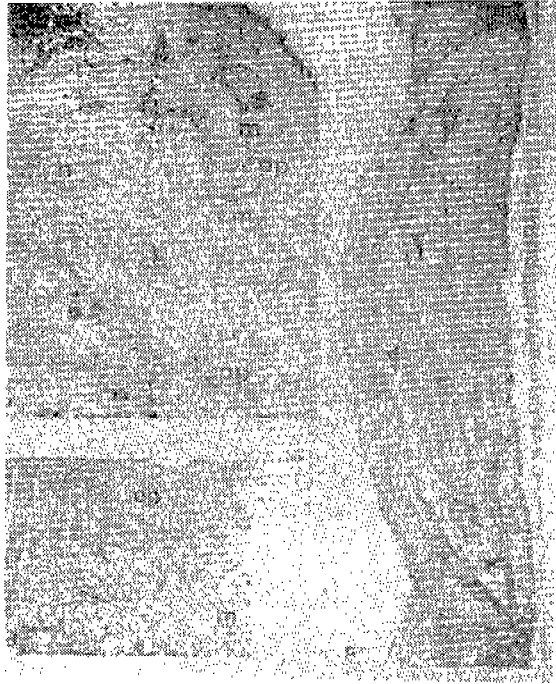


Fig. 1. Electron microscopic pictures of proplastid, etioplast and chloroplast (Steele and Possingham, 1982). a) pp, proplastid; b) ep, etioplast; c) chloroplast.

의해 형성되는 조건과의 관계)에 의해 결정된다 하겠다.

고등식물의 종자 속의 배에는 엽록체의 전구체인 proplastid가 존재한다. 발아에 나른 배의 성장으로 뿌리가 형성되고 지상 부위인 줄기.잎등이 형성됨에 따라 proplastid도 발달과정을 거치게 된다. 지하 부위의 뿌리에서는 pro-plastid나 etioplast의 형태로 존재하게 되며 지상 부위에서는 proplastid가 엽록체로 바뀜으로써 광합성 과정이 일어나게 된다 (그림 1).

통상 proplastid의 증식은 자가 복제에 의해서 이루어지는 것처럼 엽록체도 역시 자가 복제에 의해 증식하므로 배 속의 proplastid의 존재는 ovary 속의 egg 세포질 내의 proplastid의 존재를 의미한다 하겠다 (Possingham and Rose, 1976). 담배 엽록체 DNA의 염기 배열 분석 결과 얻어진 유전자 지도를 고찰 시, 기록된 유전자의 대부분은 광합성에 관여 되는 인자로서 엽록체 내에서만 발현될 것으로 생각 되는 반면 proplastid

의 'structural gene' 과 복제에 관여 되는 인자들은 주로 핵 내의 염색체 상에 존재하는 것으로 추정된다 (Dyer,1985).

위의 과정을 다음과 같이 단계 별로 정리해 보고자 한다. 1. 종자의 발아 과정에서 있을 proplastid 의 복제 과정에 따른 proplastid 의 'structural gene' 의 발현 2. 뿌리 부위로 분리되어 나온 proplastid 의 복제 과정과 etioplast 에로의 발달 과정에 있을 유전자의 발현. 3. 식물의 지상 부위의 광 조건에 따른 엽록체 유전자의 발현. 4. Egg 와 pollen 의 수정 과정에 있을 plastid 의 변화 과정에 따른 유전자의 발현.

본 론

1. 종자의 발아 과정

종자의 발아 과정 중에는 이 시기에 독특히 발현되는 amylase, protease, isocitrate lyase, phosphatase, beta-1,3-glucanase 등의 작용에 의해 종자에 저장 되어 있던 지방, 탄수화물, 단백질등의 분해로 인한 에너지 및 기초 대사 물질의 공급이 이루어짐에 따라 proplastid 도 자가 복제를 함으로써 그 수를 늘리게 된다. 이 시기는 비교적 짧은 기간으로 proplastid 내에 존재하는 엽록체의 DNA 에 기록되어 있는 유전자들은 발현 되지 않는 시기로 생각 되고 있다. 이 기간의 세포분열은 매우 빠른 속도로 일어나며, 아울러 proplastid 의 분열도 다른 시기에 비해 빨리 일어난다.

염색체 DNA 상에 기록되어 있고 세포질 내의 라이보솜 상에서 합성된 후 proplastid 의 막의 일부가 되는 구성원과 막을 통과하여 proplastid 의 기질에 존재 하면서 엽록체 DNA 의 복제로 부터 proplastid 내에서 일어나는 여러가지 생화학적 과정 (예를 들면 nitrate reduction pathway 나 pentose phosphate pathway 등) 에 관여되는 효소등의 유전자 발현이 일어난다. 즉 proplastid 의 복제 과정은 주로 핵

DNA 상에 기록되어 있는 유전자의 발현에 의해 조절된다 하겠다.

2. 지하 부위에서의 proplastid 의 발달 과정

식물의 성장과 함께 분화가 일어 남에 따라 식물의 지하 부위인 뿌리에서는 proplastid 의 복제와 더불어 proplastid 로 부터 etioplast에로의 분화가 일어난다. Epidermis, cortex, endodermis, vascular parenchyma, phloem, xylem 등 뿌리 전반에 관찰 되는 etioplast는 초기적인 thylakoid 막 구조와 노란색의 protochlorophyll 을 함유하고 있다. 이들 분화에 관여하는 유전자들은 염색체 DNA 에 기록되어 있는 것으로 생각 되며 (그림 2) 개개의 etioplast 에 있는 plastome 의 수가 식물의 지상 부위의 엽록체에 있는 plastome 의 수에 비해 대부분의 관찰된 경우 10 배 이상의 차이를 보임으로 proplastid 나 etioplast 의 발달에 관한 염색체 DNA 상에 기록되어 있는 유전자의 발현 정도가 광등의 주위 환경이나 식물체 내의 위치 조건에 따라 많은

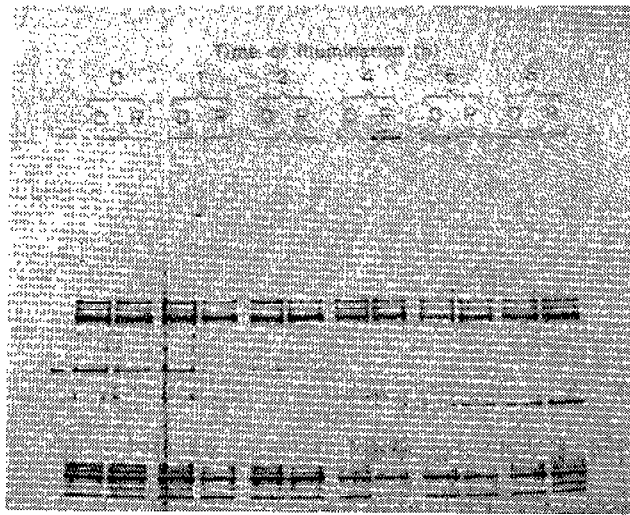


Fig. 2. Disappearance of the NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase during the light-dependent chloroplast development (Santel and Apel, 1981). D, dark; R, 2 min red light irradiation. Arrow indicates the position of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase on SDS-PAGE.

차이를 보임을 알 수 있겠다.

3. 지상 부위에서의 엽록체로의 발달 과정

Etioplast 로 부터 엽록체로의 발달은 세포막에 존재한다고 생각되는 phyto- chrome 과 etioplast 에 존재하는 protochlorophyll의 작용에 의해 적어도 초기 단계는 결정된다고 하겠다. 그러나 표피층에서는 엽록체가 기공 공변 세포 들을 제외 하고는 존재하지 않고 C4 식물에서는 ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rbc/o) 가 mesophyll 세포의 엽록체에는 존재하지 않는 등, etioplast 로 부터 엽록체로의 분화나 엽록체 내의 생화학적 기작의 분화가 식물 세포의 분화에 따라 뚜렷한 차이를 보임을 알 수 있다.

Etioplast 로 부터 엽록체로의 발달 과정은 protochlorophyll 의 chloro- phyll로의 발전, thylakoid 막의 형성, 기타 부수 색소로 불리는 carotenoid 등의 색소 합성,



Fig. 3. Red-light-induced increase in the mRNA activity (A) and the steady state concentration of transcripts (B) encoding the light-harvesting chlorophyll a/b protein of barley. Plants grown in the dark were given with a single red-light pulse, and transferred back to the darkness for the hours indicated. Poly(A+) RNA was isolated, *in vitro* translated using wheat germ system and immunoprecipitated with the antibody against the light-harvesting chlorophyll a/b protein (A). cDNA clone for the enzyme has been used for Northern analysis (B).

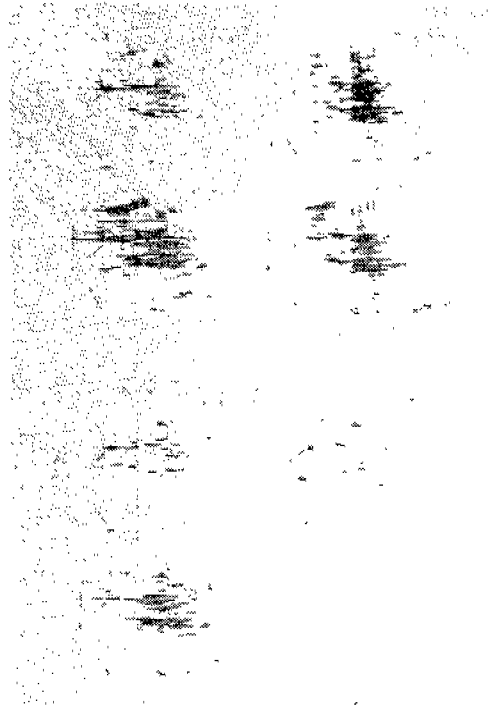


Fig. 4. Two dimensional polyacrylamide gel analysis for the soluble polypeptides from A) leaves, light-grown; B) leaves, etiolated; C) roots, etiolated; D) stems, light-grown; E) pericarps, light-grown; F) seeds, light-grown and G) petals. L, large subunit of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase; S; small subunit of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase.

광합성 전자전달계의 구성 요소들의 합성, ATP synthetase 의 합성, stromal 효소인 rbc/o 의 합성등의 일어나는 과정으로 대부분의 엽록체 DNA 에 기록되어 있는 유전자들이 발현되는 시기라 하겠다 (그림 3 과 4).

P700 reaction center apoprotein /light harvesting chlorophyll a/b binding antenna 단백질들 (Cab) 과 적어도 다섯 가지의 단백질들로 이루어진 photosystem I 복합체, P680 reaction center apoprotein / chlorophyll a/b binding antenna 단백질/cytochrome b559 apoprotein/Cab 및 기타 여덟 가지 이상의 단백질들로 구성된 photosystem II 복합체, ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase/cytochrome f apoprotein/cytochrome b563 apoprotein 의 두 가지 이상 의 단백질들로 구성된

cytochrome b/f 복합체, 다섯 가지의 구조단위들로 된 CF1 부분과 세 가지의 CF0 부분으로 된 ATP synthase 등은 모두 thylakoid 막 형성 시에 발현되는 엽록체 DNA 상 또는 핵 DNA 상에 기록된 유전자들의 산물이 라 하겠다. 또한 엽록체 DNA에 기록된 유전자들의 발현을 가져오는 데 필수인 라이보솜 구조의 발현도 위에 기술된 광합성 과정에 필수인 단백질의 발현에 앞서 이루어져야 하겠다. 엽록체의 라이보솜은 16S, 23S 와 5S rRNA 와 약 60 가지의 라이보솜의 구조 단백질들로 구성되어 있다. 이 중 rRNA 는 모두 엽록 체 DNA 에 기록되어 있으며 라이보솜의 구조 단백질들은 일부는 엽록체 DNA상에 그리고 상당수는 핵 내 엽색체 상에 기록 되어 있다. 또한 translation elong- ation factor 중 열에 약한 것은 엽록체 DNA 상에 기록되어 있는 반면 기타의 요소들은 엽색체 DNA 상에 기록되어 있는 것으로 생각되고 있다.

모든 엽록체 내에서 필요한 tRNA 의 유전자는 엽록체의 DNA에 기록되어 있어 etioplast에서 엽록체로의 발달과정에 필요한 여러가지 단백질들의 엽록체 내에서 합성이 가능하게끔 엽록체로의 발달과정의 초기에 발현되기 시작하는 유전자들이라 하겠다. 엽록체에는 박테리아와 매우 유사한 DNA-dependent RNA polymerase 가 존재하며 이 단백질도 역시 엽록체 DNA에 기록된 유전자의 etioplast 로 부터 엽록체로의 발달과정에서 발현되는 것으로 생각된다.

엽록체 내에서 탄수화물의 물질대사, nitrite 의 ammonia 로의 환원과정, sulphate 의 환원과정, cysteine의 합성과정, 지방산, terpenoid, porphyrin 등 의 합성과정등이 일어 나고 있으나 rubp carboxylase의 큰 구조단위만이 엽록체 DNA 상에 기록되어 있는 것으로 밝혀져 있으며, 이들 생화학 과정의 구성 요소 들의 상당수는 proplastid, etioplast. 엽록체등에 공통적으로 존재하는 것으로 판단 된다. 엽록체의 envelope 에는 약 70 가지의 단백질이 존재하며 이 중 세 가지는 엽록체 DNA 상에 기록되어 있어 엽록체 분화과정 중에 발현되는 것으로 생각된다 (Steele and Possingham, 1982).

4. Egg 와 pollen 의 수정과정

Egg의 세포질 내에는 proplastid 가 존재함이 관찰 되었으며, 화분의 세포질 내에 존재하던 엽록체들은 화분의 발아와 수정 과정 사이에 도태되어 없어 진다. 이러한 도태과정에 발현되는 유전자들은 식물의 노화과정에 발현되는 유전자들 과 유사 하겠으며 protease, ribonuclease, chlorophyllase, acid phosphatase 등의 가수분해 효소들의 작용에 의해 엽록체의 분해가 일어날 것으로 판단된다 (Earle, 1982).

결 론

엽록체는 일종의 cyanobacteria 가 지구상의 생물발생 초기에 진정핵 세포에 들어가 공생이 시작됨으로써 그 근원이 시작되었다고 추측되고 있으며 광에너지 의 고정능력을 가지고 있는 이 기관은 지구의 모든 생명체의 주요에너지 공급원 으으로써 중요한 역할을 담당하고 있다. 실제적인 생명공학적 측면에서 엽록체를 고찰할 시 rubp carboxylase/oxyge- nase의 활성도를 바꿈으로써 이 효소의 탄소고정능을 증가시키고 광호흡 쪽으로 의 활성도를 낮춤이 가능할 것으로 판단되어 더욱 효율적인 광에너지의 이용을 기대할 수 있으며, 일부의 식물 호르몬들이 엽록체 내에서 합성되며 이 기작 또 한 많은 식물 및 농학자들의 관심의 대상이 되겠다. 일부의 주요 제초제들은 엽록체에 작용하므로써 효과를 나타내며, 주요 작물에서의 이들 제초제가 작용 하는 receptor부위를 바꿔 줌으로써 작물의 제초제에 대한 저항성을 발현시키는 방법은 제초제에 의한 비특이적인 작물예의 피해를 줄이는 가능한 방안이라 여

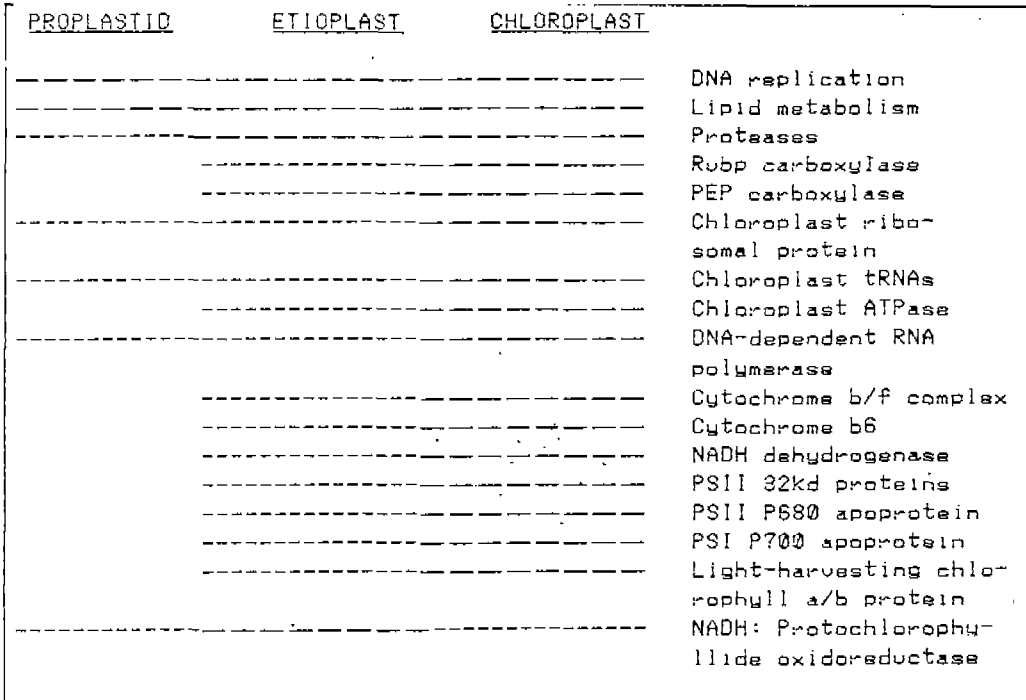


Fig. 5. Differential gene expressions during the course of chloroplast development.

거진다. 엽록체를 통한 세포질 유전 역시 많은 육종가들과 식물학자들의 관심의 대상이며 분자 수준에서의 엽록체 유전자의 발현에 관한 지식은 이들이 목적 한 바를 이루는 데 좋은 도구가 될 수 있을 것이다.

아직도 엽록체 유전자의 발현에 대해서는 (특히 엽록체 DNA와의 관계에 있어서는) 그의 이해가 시작되는 단계에 있으나 (그림 5) 보고된 결과를 고찰 시 엽록체의 발달에 관한 유전자의 발현이 식물의 분화에 따라 매우 경제적으로 조절 되고 있음을 알 수 있다. Totipotency는 식물에게 지속적으로 변하는 주위 환경에 적응할 수 있는 능력을 주며 아울러 식물의 분화 과정이 동물의 분화과정에 비해 간단함을 표시한다고 할 수 있을 것이다. 이와같은 면은 분화 과정에 대한 이해가 식물의 생명공학적인 응용에 전제되는 주요한 요소인 만큼 식물의 이용을 도모하는 노력에 한 가지 격려가 될 수 있겠으며, 엽록체가 주요 세포기관인 만큼 이의 분화에 대한 이해는 식물체의 분화에

대한 이해의 주요 부분을 차지 하겠다. 최근에 완성된 엽록체 유전자의 염기서열 확인은 이와같은 노력의 일부라 할 수 있으며 확인된 염기서열의 분석에 의한 가능한 open reading frame 들의 확인과 각 open reading frame 들의 크론의 확보가 가능해질 것으로 보여 한층 엽록체 발달 과정에 대한 이해에 진전이 있으리라 여겨진다 (Shinozaki *et al.*, 1986).

참 고 문 헌

1. Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards and N. H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small sub-unit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *EMBO J.* 3.....: 1671-1679.
2. Dyer, T.A. 1985. The chloroplast genome and its products. *Oxford Surveys of Plant Mol. Cell Biol.* 2.....: 147-177.
3. Earle, E. 1982. Gametogenesis, fertilization and embryo development. In *The molecular biology of plant development* (H. Smith and D. Grierson, ed.) Blackwell Sci. Publ., Berkeley, CA., U.S.A. pp. 285-305.
4. Gollmer, I. and K. Apel. 1983. The phytochrome-controlled accumulation of mRNA sequences encoding the light-harvesting chlorophyll a/b protein of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Eur. J. Biochem.* 133: 309-313.
5. Possingham, J.V. and R.J. Rose. 1976. Chloroplast replication and chloroplast DNA synthesis in spinach leaves. *Proc. Roy. Soc. London B.* 193: 295-305.
6. Santel, H.-J. and K. Apel. 1981. The protochlorophyllide holochrome of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Eur. J. Biochem.* 120: 95-103.
7. Shinozaki, K., M. Ohme, M. Tanaka, T. Wakasugi, N. Hayashida, T. Matsubayashi, N. Zaita, J. Chunwongse, J. Obokata, K. Yamaguchi-Shinozaki, C. Ohto, K. Torazawa, B. Y. Meng, M. Sugita, H. Deno, T. Kamogashira, K. Yamata, J. Kusuda, F. Takaiwa, A. Kata, N. Tohdoh, H. Shimada and M. Sugiura. 1986. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome. *Plant Mol. Biol. Rep.* 4: 110-147.
8. Steele-Scott, N. and J.V. Possingham. 1982. Leaf development. In *The molecular biology of plant development* (H. Smith and D. Grierson, ed.) Blackwell Sci. Publ., Berkeley, CA., U.S.A. pp. 223-255.

저 자 약 령

홍주봉 (洪 周 奉) 박사

- 1952. 3. 22. 생
- 1973 서울대학교 식물학과(이학사)
- 1977 서울대학교 대학원 식물학과 (이학석사)
- 1983 미국 미시간주립대학교 대학원 식물학과 (이학박사)
- 1973 - 75 제3육군사관학교 자연과학 교관
- 1978 - 83 미국 Michigan주립대학교 연구조교
- 1983 - 84 미국 Texas Tech. Univ., 생화학과 박사후과정
- 1984 - 87 미국 California대학교, San Diego, 생물학과 박사후과정
- 1987 - 현재 한국과학기술연구원 유전공학센터 선임연구원