

*Arabidopsis*의 형질전환과 유전자 발현

백 경 회
(하버드대학교 의과대학 유전학과, 메사추세츠, 미국)

Transformation and Gene Expression in *Arabidopsis thaliana*

Kyong Hi Back
(Dept. of Genetics, Harvard Medical School,
Dept. of Molecular Biology, Massachusetts General Hospital)

Abstract

Arabidopsis thaliana has been used as a good model system for the molecular biological studies on plants for following reasons. It has small genome size and short generation time, with easiness to obtain mutants and to be transformed. Prospect of its use in applied field is discussed briefly.

서 론

식물체는 식물체 자체의 고유한 분화 및 발달과정을 갖고 있다. 또 인류의 입장에서 볼 때 식량생산이라는 면에서 상당히 중요한 생명체의 위치를 차지한다는 것을 알 수 있다. 그런데 현대의 생물학인 분자생물학적 입장에서 본다면 식물체에 대한 연구가 다른 생물체에 비해 비교적 늦어졌다고 할 수 있겠다. 여러 이유중 하나가 세균이나 효모같은 것을 제외하더라도 동물체에서 초파리에 해당하는 식물체가 없었다는 점일 것이다. 즉 빨리 자라고 많은 숫자를 실험실

에서 쉽게 다룰 수 있고 유전학 연구가 많이 되어 있어 쉽게 분자생물학을 유전학과 결합시킬 수 있는 체제가 없었다는 사실인 것이다. 유전학이란 학문이 Mendel의 완두콩 실험에서 시작되었음에도 불구하고, 분자유전학의 관점에서 보면 식물체는 이상적인 대상과는 거리가 먼 것으로 간주되어 왔다. 그러나 최근 들어 전반적인 분자생물학 발전과 아울러 특히 gene transfer technology라든지 *in situ* hybridization 등의 기술이 식물체에 도입되면서 식물체 고유의 developmental process (분화 과정)를 분자생물학 측면에서 연구할 수 있는 계기가 마련되게 되었다.

1. Model System으로서의 *Arabidopsis*의 특성

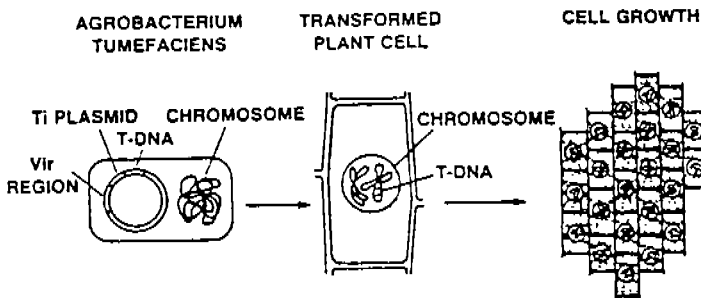
식물체를 대상으로 한 생물학의 관심이 고조되면서 최근 학술잡지에 *Arabidopsis thaliana*라는 다소 생소한 이름이 자주 등장하게 되었다. 이 식물체가 각광을 받게 된 것은 바로 동물에서 초파리에 해당하는 식물의 model system으로 이용될 수 있다는 점이였다. 그러면 왜 이 식물체가 model system으로서 가치가 있는 지를 고찰해보자. *Arabidopsis thaliana*는 겨자과 식물로서 고등식물에 속하나 식물체의 크기는 아주 작다. 즉 흙에서 기를 때는 cm^2 당 10개 정도의 식물체를 기를 수 있고 또 합성배지를 공급해 준 petridish에서 무려 5,000개 정도의 씨를 심어 받아시킨 후 쉽게 selection이나 screen이 가능하다. 또 빛, 습기만 있으면 어느 곳에서나 쉽게 기를 수 있다.

그 다음은 한 세대가 짧고(약 5-6주), 씨를 많이 만들어 내고, 자가수정을 하여 돌연변이들을 쉽게 유지할 수 있고, 또 원하면 타가수정을 쉽게 행하여 multiple mutant를 만들 수 있다. 그리고 genome size가 작다는 점도 장점으로 들 수 있다. genome size가 작다는 점은 recombinant DNA 일을 한결 수월하게

해준다. 또한 repetitive DNA가 별로 없어서 "chromosome walking" technique의 적용이 가능하다. 그 다음 장점은 이미 40여년 동안 유전학적인 연구가 많이 되어 있다는 점이다. 보통 EMS (Ethyl methane sulfonate)나 X-ray를 이용해 쉽게 돌연변이체를 얻을 수 있다. 마지막으로 언급할 것은 조직배양이 가능하고 *Agrobacterium tumefaciens*를 이용한 transformation이 가능하다는 점이다. 위의 여러가지 장점들을 살펴볼 때, *Arabidopsis*가 유전학적으로 잘 분석되어 있으면서 외부의 유전자를 쉽게 도입하여 연구할 수 있는 거의 첫번째 식물이라는 점에서 model system으로서 이용될 만한 여건을 갖추고 있고 또한 식물 분자생물학 연구과정을 앞당길 수 있다는 점에서 무한한 가능성을 내포하고 있는 것이다.

2. *Arabidopsis*의 Genetic transformation system

식물체에는 외부의 새로운 유전자를 도입할 수 있는 자연적인 interspecific gene transfer system이 존재하고 있다. 즉, *Agrobacterium tumefaciens*라는 soil pathogen에 해당하는 bacteria가 그 안의 Ti-plasmid에 존재하는 T-DNA를 식물체에 전달하여 감염된 식물 세포에 integration된 뒤, 식물체에 tumor를 유발할 수 있다는 점을 이용한 것이다. 다음의 그림1에 *A. tumefaciens*에 의한 plant transformation 과정이 표시 되어 있다.



그리고 조직배양 방법에서 가장 중심이 되는 것은 식물체의 totipotency (전체형성능)를 이용하는 것이다. 식물체는 동물체와 달리 적당한 조건 하에서 vegetative cell에서 embryogenesis를 거쳐 다시 organogenesis를 거친 후 성체를 만들어 낼 수 있다. 실제 실험에서는 T-DNA를 제거하고 대신 여러가지 다양한 antibiotic-resistance gene 등의 selectable marker로 대체하여 이용하고 있다. 또 Ti-plasmid의 크기가 커 직접 cloning하는 데는 어려움이 있는지라 *E. coli*에서 쉽게 조작하여 *Agrobacterium*에 접어 넣을 수 있는 intermediate vector들이 개발 되었다. *Arabidopsis*는 *Agrobacterium tumefaciens*를 이용한 감염이 가능하므로 다양한 vector system을 이용하여 조직배양을 이용한 transformation이 행해지고 있다.

3. *Arabidopsis*의 유전자 발현 연구

*Arabidopsis*는 쉽게 돌연변이체를 얻을 수 있기 때문에 이미 많은 돌연변이체들이 얻어졌고 mapping이 되어 있다. 이들중 developmental mutant로서는 David Meinke group의 embryo-lethal mutant들이 있는데 이들은 embryo development 과정중 각각 다른 단계에 돌연변이가 일어나 embryo development를 알아내는 데 중요한 정보를 제공해 주고 있다. 그밖에 ap-1(apetala-1) 등의 꽃잎발달이 제대로 안된 돌연변이체들이 있는데 이들은 flower development를 연구하는 데 큰 도움을 줄 수 있다. 그 다음 단계는 이들 변형된 유전자들을 찾아내는 일인데 이것은 physical mapping, RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism) mapping 나아가 chromosome walking을 통해 *Arabidopsis*의 작은 genome size를 이용하여 다른 식물체에 비해 비교적 쉽게 찾아낼 수 있을 것으로 여겨진다.

Arabidopsis genome의 효용성은 특정한 유전자에서도 잘 나타난다. 보통 식물체에서는 유전자들이 multiple gene family로 되어 있어 유전자 조절기작을 연구하는 데 많은 어려움을 주고 있는데, *Arabidopsis*에서는 보통 이들 유전자가 single gene이나 small gene family로 되어 있어 cloning과 나아가 gene regulation을 보다 완전하게 연구하는 데 많은 도움을 준다. 예를 들어 필자가 연구하고 있는 plant pathogen interaction 분야에서 plant defence enzyme 중의 하나인 chitinase 의 cloning 단계를 보기로 하겠다. 이것은 콩(*Phaseolus vulgaris* L. cv. Saxa)의 chitinase cDNA를 probe로 하여 *Arabidopsis*의 작은 genome size를 이용하여 cDNA library보다 screening이 용이한 genomic DNA library를 이용하여 가능하다. 다음으로 chitinase gene의 발현을 보기 위해서는 이 chitinase gene의 발현을 촉진하거나 억제하는 signal을 알아내는 것이 중요한데, 이것은 GUS(β -glucanase) fusion system을 이용하여 cis-acting regulatory element와 trans-acting element를 찾아냄으로써 가능하다고 할 수 있겠다. 나아가서는 생체외(*in vitro*)에서 다양하게 유전자 조작을 하여 transformation을 이용해 다시 생체내(*in vivo*)에 넣은 뒤 여러 environmental factor에 의한 유전자 발현의 변화를 연구하는 것이 가능하다.

4. 응용과 전망

식물체를 연구하는 실용적인 목적은 유전공학 기술을 이용하여 보다 우수한 농작물을 개발하는 데 있다고 볼 수 있다. 이것을 이룩하기 위해서는 식물체 자체의 고유한 developmental process를 알아내는 것이 선행되어야 하겠다. 이런 점에서 *Arabidopsis*는 중요한 전환점을 마련해 주었다고 볼 수 있다. 즉,

원하는 유전자를 *Arabidopsis*에서 찾아내어 이것을 probe로 하여 유용한 농작물에서 그에 해당하는 유전자를 찾아내는 것이 가능하다는 점이다. 장차 *Arabidopsis*가 유전학, 분자생물학 연구에 힘입어 현재 널리 쓰이고 있는 다른 organism들처럼 기초적이며 또한 응용적인 과학 발달에 기여하게 되기를 기대한다.