

고등식물의 유전자 발현의 조절

심웅섭
(고려대학교 이과대학 생물학과)

Regulation of Gene Expression in Higher Plant

Sim, Woong-Seop
(Dept. of Biology, Korea University, Seoul)

Abstract

The regulatory mechanisms of gene expression in higher plant were not ascertained in detail because the genome size is very large and complex. However, the above-mentioned study is remarkably progressed in parallel with development of DNA recombinant technology and plant vector system. Some research results connected with the mechanisms could be summarized as follows.

1. Many plant genes including chloroplast genes are cloned.
2. The structures of some regulatory regions of gene expression are determined, and it is confirmed that new regulatory units are made by transposable elements.
3. Plant gene expression is regulated not only at transcriptional level but also at translational level.
4. The factors that regulate plant gene expression could be divided as two categorys. One is endogenous elements including the structural change of chromatin during development stage and tissue differentiation. The other is environmental stimulations such as air, water, heat, salts and light. However, some sufficient research-aid fund is essential in order to study the regulatory mechanisms of gene expression more systematically.

서 론

어떤 유전자가 언제나 발현될 때 그 유전자를 항상성 유전자(constitutive genes)라 한다. 이런 유전자들은 기관이나 조직 또는 내·외적 자극등에 무관 하게 언제나 전사되고 해독된다는 것을 의미하는것이다. 그러나 식물의 유전자 발현에 관한연구가 앞으로 보다 상세히 진행되어가면 지금까지 항상성 유전자로 알려졌던 유전자들도, 현재로서는 알려지지 않은 어떤 조건에 의하여 그들의 발현이 조절되는 것으로 밝혀질 수도 있다. 사실상, 식물유전자들 중 절대적인 항상성 유전자를 찾아낸다는 것은 매우 어려운 일이다. 지금까지의 연구결과로 보아서는 미토콘드리아내 ATPase의 beta-subunit를 암호화하고 있는 핵내 유전자만이 진실한 의미에서의 항상성 유전자인 것으로 여겨지고 있다. 이 유전자는 광등 외부환경 요인에 의하여 그의 발현이 조절되지 않을 뿐만 아니라, 실험해본 모든 조직에서 똑같은 수준으로 발현되고 있다.

그러나 많은 식물유전자들은 그의 발현이 조절된다. 한 계층내에 존재 하는 유전자의 발현양상은 세포의 종류, 발생시기 및 외부환경 조건등에 따라서 각각 다른데 이와 같은 현상의 근본원인은 각 세포에 주어지는 자극의 질적 및 양적차이 때문인 것으로 생각된다. 유전자의 발현에 영향을 미치는 자극은 같은 자극이라 하더라도 유전자의 종류에 따라서 유전자 발현에 미치는 영향은 서로 다를수도 있고, 서로 다른 자극이라 하더라도 특정유전자의 발현에 미치는 영향은 같을 수도 있다.

이와 같은 유전자발현 조절의 기작을 구명하기 위해서는 여러가지 방향으로 연구가 진행되어야 하겠으나, 가장 기본적이고 중추적인 것은 역시 분자 생물학적 접근방법일 것이다. 즉, 유전자의 구조와 기능에 관한 연구가 문제해결의 선결과제이다.

최근 유전자 전달시스템의 발달에 따른 유전자 클로닝기술은 복잡한 식물의 유전자

발현의 조절기작을 구명할 수있는 가능성을 제시하였다. 유전자 전달시스템을 이용하면 새로운 이질유전물질을 식물세포내로 넣을 수 있을 뿐만 아니라, 나아가서 유전자발현을 조절하는 누클레오티드서열을 찾아내고 그에 대한 특성을 연구할 수 있다. 따라서 식물의 생활사중 특정시기에 특정 기관에서 특히 많이 발현되는 유전자든지 또는 외부자극에 의하여 발현이 조절되는 유전자를 클로닝하면 기관, 조직 및 세포특이성 프로모터와 환경 조건에 따라 기능이 조절되는 프로모터를 찾아내어 그들의 특성을 구명할 수 있다.

본고에서는 근년에 밝혀진 식물유전자의 구조와 발현에 관한 연구현황과 방향성을 소개하겠다.

본 론

1. 전사과정에서의 유전자 발현조절

1) 유전자의 구조 및 발현조절부위

최근에 기능이 밝혀진 핵내 유전자의 구조는 기능상 몇개의 지역으로 구분된다. 모든 핵내 유전자들은 5' 말단에 하나의 프로모터를 가지고 있고 전사의 시발점인 CAP site로부터 약 -70과 -30 bp 지역에 CAAT와 TATA 박스가 있는데, 이들은 RNA 중합효소의 결합과 관계가 있다. 또한 어떤 유전자들은 CAAT나 TATA 박스외에도 5' 상류(upstream)쪽에 환경요인이나 발생시기에 따라 유전자 발현을 조절하는 또다른 조절부위를 가지고 있다. CAP site의 하류(downstream) 쪽에는 해독되지 않는 지역이 있고 그 다음에 해독 시발코돈인 ATG가 있다. 전사지역내에는 introns이 있다. 그리고 핵내 유전자들의 해독지역 말단에는 해독의 종말코돈인 TAA, TAG

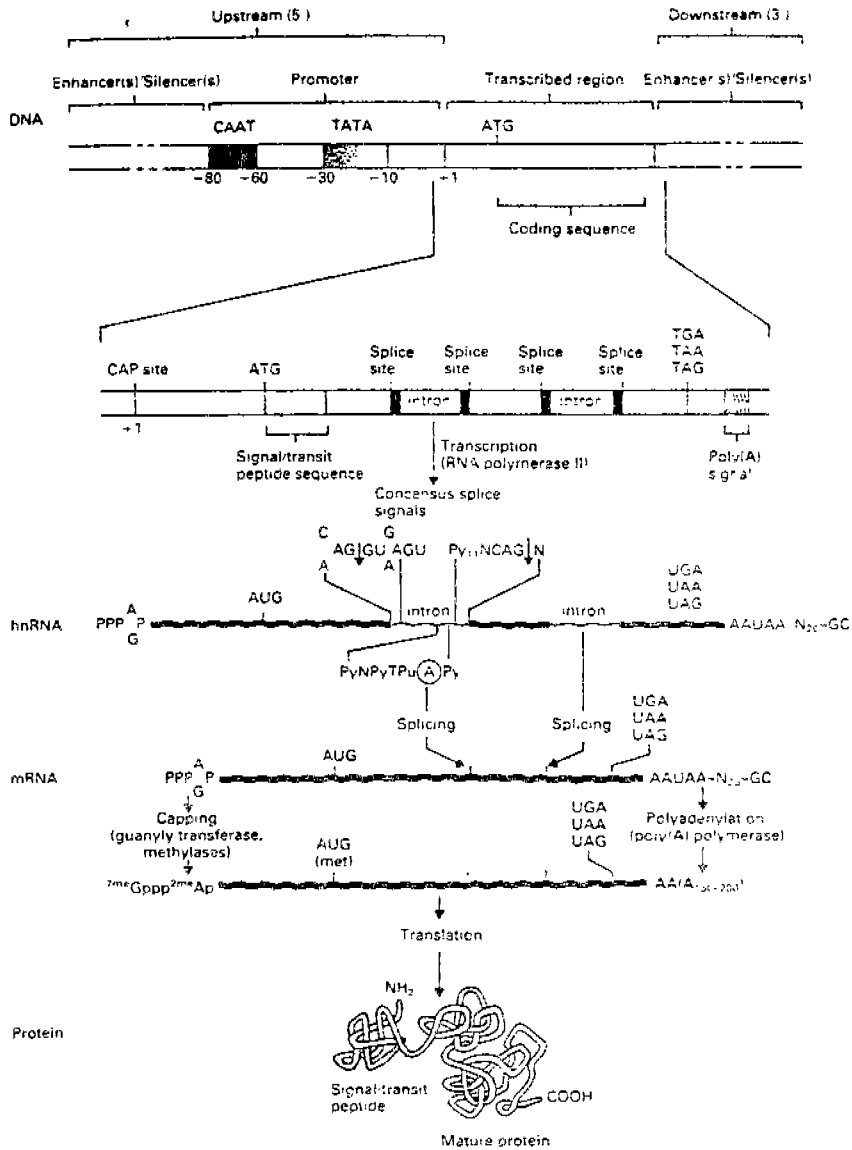


Fig. 1. Structure and expression of nuclear-encoded plant genes.

또는 TGA (mRNA의 UAG, UAA 또는 UGA에 해당됨)가 있고, 그 뒤에 다시 해독 되지 않는 지역이 있으며 맨 마지막에는 A-T 쌍이 많고 일반적으로 G/AATAA(AA) 로 특징 지어지는 3' polyadenylation signal이 있다(그림 1).

관속식물의 색소체 게놈의 크기는 대부분 120 - 180 Kbp 이고, copy 수는 식물의

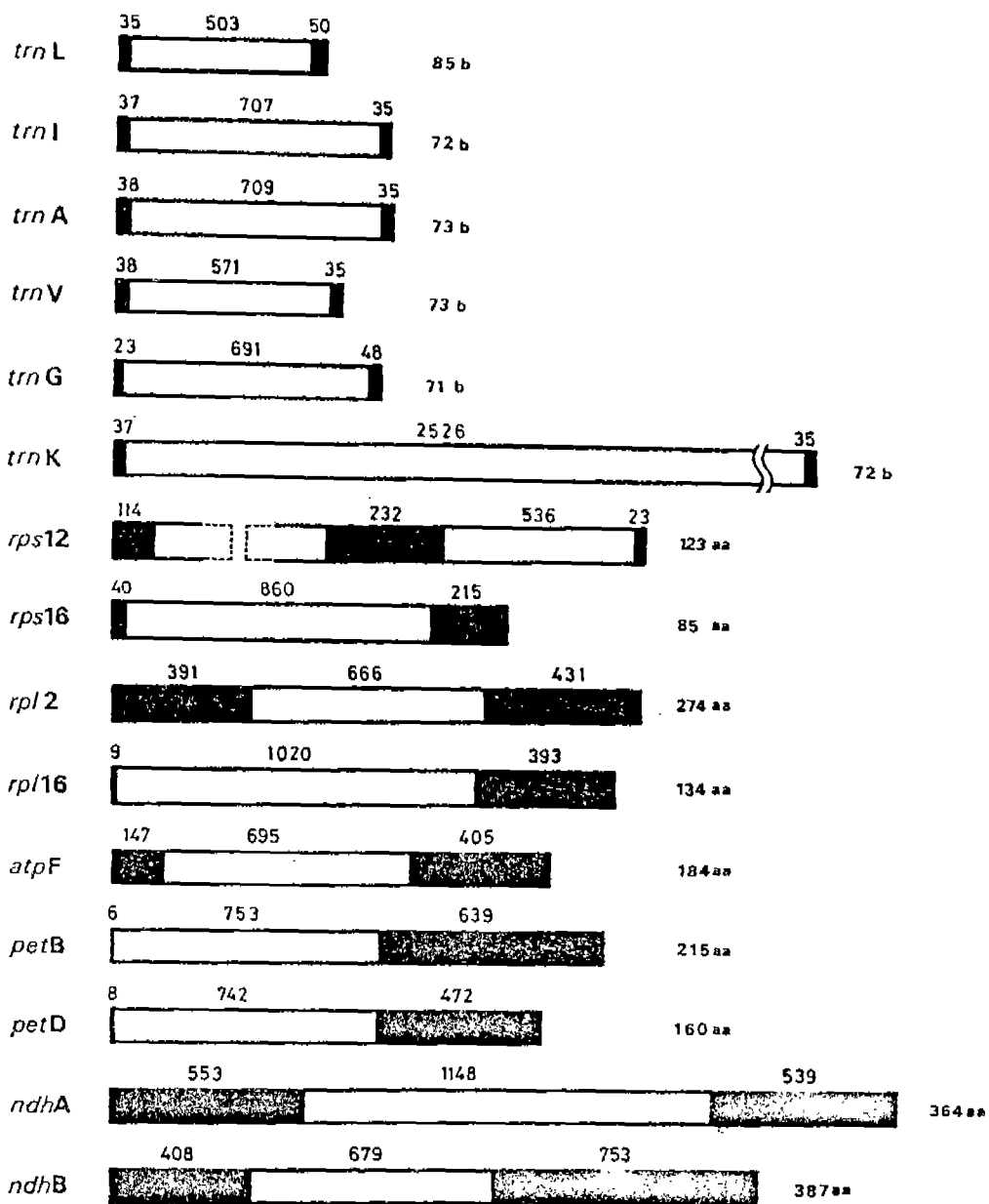


Fig. 2. Schematic presentation of the structures of 15 split genes found in tobacco chloroplast DNA. Filled boxes indicate exons and open boxes intron. Numerals above boxes are bp. Dotted boxes in *rps12* show transons.

종류에 따라서 22 - 900 개 정도이다. 색소체 게놈에 포함되어 있는 유전자 수는 전체가 약 123 개 (많은 식물의 연구 결과의 평균치) 인데, 그 중 86 개는 그들의 기능이

	5' EXON	INTRON	3' EXON	INTRON SIZE (bp)
Group I	trnL-UAA	AATTGGATTGAGCCCTTG-----GAAATTTATCGTAAGAGG	AAAATCCG	503
Group II	trnI-GAU	TTGGCTCGTTGTGCCCTG-----TCCGATGATTTACTTCCAC	GGGGCCGAG	707
	trnA-UGC	TTGGGTCGTTGCCGATTA-----GGCGGTGGTTTACCCTGC	GGCGGATG	709
Group III	trnV-UAC	GCGGCCCAATGTTTTTTC-----AGTTTGACCTGTT TTAC	CGAGAAGG	571
	trnG-UCC	TGGTAAAA	GTGTGATTCGTTCTATT-----ATCGTCGTCGACTATAAC	691
	trnK-UUU	GCTTTTAA	GTGGCGCTAGCTCTCTTT-----GAACTTATCTACT CCAT	2526
	rps12	GCGTTCTA	GTCCGTTGTAGATTCTT-----TTCGAGATCCACC CTAC	536
	rps16	AAAGCAAC	GTCCGACTTGAAGGACA-----ATCTACATCAATCCCAAT	860
	rpl2	ACCTTTGA	GTGGCGTTTGAACATAAT-----AGAAGAATCTACT TCAA	666
	rpl16	TGCTTAGT	GTGTGACTCCGTTGGTT-----ACAACCATCAACTATAAC	1020
	atpF	GGGAGTGT	GTCCGACTTGTTTATTT-----AAAAATACTACTTTTCAAT	695
	petB	GTATGAGT	GTGTGACTTGTATAAAT-----AGTTCGGCTATCTCAAT	759
	petD	ATGGGAGT	GTGTGACTTGAACATAAT-----GAAATCACCTATCCCAAT	742
	ndhA	ATCTCTAC	GTGTGATTCGGTGAGAC-----GTATCATCGACTATGAT	1148
	ndhB	ACGAAGGA	GTGGCGTTTCGTTCCGAGA-----CCTCTTTTCGACTCTGAC	679
Conserved sequence	Group III	GTGYGRYYYY	RYCNAYMYNAY	
	<u>Euglena</u>	GTGYG	TARTTNTAY	
	Nuclear	AAG GTGRAGT	YYYYYYNCAG GG	

Fig. 3. Comparison of the exon-intron boundary sequences of 15 split genes from tobacco chloroplasts. The conserved boundary sequences of *Euglena* introns (Hallick *et al.*, 1985) and of introns of nuclear protein genes (Cech, 1983) are shown below.

밝혀져 있는 유전자이며, 약 37 개는 기능이 밝혀져 있지 않은 ORF 로 밝혀 졌다. 엽록체의 유전자들도 introns을 가지고 있는데, 그들의 크기나 양끝부위의 염기서열 (boundary sequence)은 각각 다르다. 예를 들면, 담배의 엽록체 DNA 에서 발견된 15개의 split genes의 구조를 보면, 그림2 에서 보듯이 각각 서로 다른 크기의 introns을 가지고 있는데, 이들은 양끝부위의 염기서열과 그들이 형성할 수 있는 가능한 2차구조를 기준으로 해서 그림3 에서 보듯이 3가지 그룹으로 크게 분류한다. 그룹1은 trnL intron과 같이 2차구조를 이룰 수 있으며 5'말단은 AAT로 시작되는 것이고, 그룹II는 trnA와 trnI와 같이 5'말단은 TTG로 시작되고 역시 2차구조를 형성할 수 있는 것이며, 그룹III 은 5'말단에 GTGYGRYYYR를 그리고 3'말단에는 RYCNAYY(Y)YNAY를 가지는 것이다. 엽록체 구조 유전자들의 5'말단에 접해있는 지역의 염기서열은 식물의 종류나 유전자의 종류에 관계없이 아주 비슷하다. 예를들면, rbcL 유전자(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase 의 large subunit gene)의 5' 지역은 쌍자엽식물 (시금치, 담배, 토마토 그리고 완두)과 단자엽식물 (옥수수, 밀, 보리) 사이에 80% 이상의 상동성을 보이는데, psbA (PSII 32Kd protein)

```

psbA      TTGGTTGACACGGGCATATAAGGCATGTTATACTGTTGAATAA
          <.....18 bp.....>
trnM2     ATTCTTGCTTATATATAATATTTGATTTATAATCAATCTATGG
          <.....17 bp.....>
rbcL      TGGGTTGCGCCATATATATGAAAGAGTATACAATAATGATGGA
          <.....18 bp.....>
atpB      AGTCTTGACAGTGGTATATGTTGTATATGTATATCCTAGATGT
          CGC                      C G
          TTGACA.....?.....TATAAT
          TT
  
```

Fig. 4. Comparison of spinach chloroplast promoter regions. The 5' region which flank the transcription initiation sites(“) are compared for conserved sequence elements. The function of the underlined DNA sequences as promoter elements has been verified in chloroplast transcription extracts. The bottom line shows the prokaryotic consensus -35 and -10 promoter elements with modifications in the chloroplast DNA sequences.

유전자에서도 비슷한 상동성을을 나타낸다. 그리고 이들 *rbcL*과 *psbA* 유전자를 비롯하여 *trnM2* (*tRNA-met gene*의 일종)와 *atpB* 유전자 (*ATPase beba subunit*)들의 프로모터 지역에는, 그림4 에서 보듯이 원핵 생물 프로모터의 -10과 -35 지역에 일반적으로 존재하는 TATAAT 와 TTGACA 염기 서열과 유사한 DNA 염기서열을 가지고 있는데, 이들 지역은 생체의 분석실험을 통하여 전사시발에 필수적인 지역임이 밝혀졌다. 그러나 모든 엽록체 유전자가 위에서 설명한 구조를 하고 있는 것은 아니다. 몇몇 시금치의 엽록체 tRNA 유전자들을 분석한 결과 *trnR1* (*tRNA-Arg* 유전자중 하나임)과 *trnS1* (*tRNA-Ser* 유전자중 하나)의 프로모터의 위치가 완전히 밝혀져 있지는 않으나, 앞에서 언급한 원핵생물의 프로모터와 유사한 구조를 가지고있지 않은것으로 알려졌다.

식물의 미토콘드리아 게놈의 크기는 동물이나 fungi의 것보다 크며, 식물의 종류에 따라서 200 - 2500 Kbp 정도이고, 대개의 경우 하나의 커다란 게놈이 재조합 현상에 의하여 여러개의 소단위 게놈으로 나누어지기도 하는 multipartite genome structure를 하고 있다. 그리고 미토콘드리아 유전자는 대부분 introns을 가지고 있지 않으며, 이들 유전자의 5' upstream region에 있는 전사의 조절 부위는 밝혀져 있지 않은 실정이다.

2) Transposable elements (TEs)에 의한 regulatory units의 진화

식물에는 여러가지 종류의 TEs가 있는데, 이들은 두가지 독특한 특징을 가지고 있다. 그 하나는 TEs의 종류에 따라 target sequences의 크기(염기쌍수)가 일반적으로 정해져 있다는 것 (*Cin4* 는 정해져 있지 않다)과 다른 하나는 세균, 진균류 및 동물등의 TEs와는 달리 excision에 의하여 transposition 되는 것이다.

이와같은 특성을 갖는 TEs가 어느 유전자내로 들어가서, 그 유전자에 새로운 조절부위를 만들기도 한다. 예를들면, *En(Spm)*은 anthocyanin 생합성에 관여하는

여러 유전자중의 하나인 옥수수¹의 al 유전자내로 transposition 되어 들어가서 그 유전자의 발현을 억제하기 때문에 발생과정에 있는 옥수수 낱알의 색을 얼룩덜룩하게 만든다. 그런데 이들 얼룩덜룩한 색을 하고 있는 옥수수 낱알 외에, 아주 드물기는 하지만 색이 창백한 낱알 (al-m1이라 명명됨)과 무색낱알 (al-m2)이 나타나기도 한다. 이들 al-m1과 al-m2 돌연변이체는 그 돌연변이 형질이 비교적 안정하게 유지되나, 경우에 따라서는 al-m1은 무색 바탕에 많은 유색반점을 갖는 형태로 변하고, al-m2는 유색의 바탕색에 보다 진한 몇몇 유색의 반점이 있는 형태로 변하기도 한다. 이와같은 현상은 En의 내부 sequence는 deletion 되고 양쪽끝 부분은 정상적으로 남아 있는 서로 다른 deletion 유도체가 al-유전자내의 서로 다른 부위에 잔존하고 있다가, 완전한 기능을 가지는 자율성 En이 게놈내에 없을 때는 deletion En이 excision 되지 못하기 때문에 al-m1과 al-m2 형질이 그대로 지속되나, 자율성 En이 게놈내에 다시 존재하면 al-유전자로부터 결손 En이 excision 되기 때문에 다시 얼룩덜룩한 색의 낱알로 변하는 것이다. 이와같은 현상을 유전학적으로 볼 때는 al-m1과 al-m2에는 자율성 En의 산물에 의하여 그의 기능이 조절되는 새로운 regulatory unit가 만들어진 것이다.

3) 전사수준에서 유전자발현을 조절하는 외적요인

(1) 공기에 의한 조절

유전자 발현을 전사과정에서 조절하는 외적요인은 여러가지 있겠으나, 본 고에서는 공기, 온도 및 빛에 의한 전사의 조절현상을 살펴보겠다. 옥수수 모(seedling)의 뿌리를 무산소 상태로 처리하면 세포의 호흡은 유기호흡에서 발효로 전환되어 ethanol이 축적된다. 또한 세포내 전체 단백질의 합성율은 감소되나, 약 20가지 새로운 무산소성 단백질 (anaerobic proteins or ANPs)의 합성이 유도된다. 이들 20가지 단백질중 기능이 밝혀진 것은 ADH1과 ADH2, pyruvate decarboxylase,

glucose phosphate isomerase, aldorase 그리고 sucrose synthase-1 등 해당과정에 관여하는 5가지 효소다. 이들 5가지 ANPs 유전자들의 기관별 유도현상을 보면, 뿌리등 여러기관에서도 유도되나, 아직 coleoptile에 싸여있는 어린잎에서는 아무런 ANPs도 유도되었기 때문이다. 또한 이들의 전사유도기작을 구명하기 위하여 이들 두유전자의 5' upstream의 구조를 조사한 결과, 5' upstream에는 두개의 상동성 지역이 있는데, 하나는 "TATA" 박스를 포함한 11bp 지역이고 다른 하나는 8 bp로 구성된 지역이었다.

(2) 온도에 의한 조절

세균에서 사람에 이르기까지 모든생물은 열에 대하여 일정한 생리적 반응을 보이는데 가장빨리 관찰할 수 있는 반응은, 열자극이 주어지면 정상적인 온도에 있을 때 합성되는 정상적인 단백질의 합성이 정지내지 현격히 감소하고, 열자극 단백질 (heat-shock protein or HS 단백질)의 생합성이 유도되는 현상 이다. 정상적인 단백질의 생합성이 줄어드는 것은 일반적으로 mRNA 양은 거의 일정하게 유지되나 정상 mRNA들의 해독이 급격히 감소되기 때문이며, HS 단백질의 양이 증가하는 것은 HSP 유전자로부터 전사가 유도되어 열자극이 주어지는 동안 HSP mRNA만이 선택적으로 해독되기 때문이다. 콩, 완두콩, 담배, 토마토 및 옥수수등 고등식물의 hsp는 그들의 분자량에 따라서 대 (68-104Kd), 중 (20-30Kd) 및 소 (15-18Kd)등 3그룹으로 구분된다.

HSP 유도는 일시적 (transient) 현상으로써, 열자극을 받으면 곧 hsp mRNA 합성되지 않는 기관 및 조직특이성을 보인다.

뿌리에서 무산소성 유전자발현의 유도과정을 구명하기 위하여 ADH1과 ADH2의 cDNA를 만들어 ADH1과 ADH2 유전자로부터 mRNA의 합성율을 측정한 결과 무산소처리 5시간 후에 약 50배 증가하였는데, 이는 이들 두유전자로부터 전사가

합성이 유도되기 시작하여 일정한 수준에 달하면 몇시간 그 수준이 유지 되다가 그후에는 hsp 유전자의 전사는 정지되고 hsp mRNA도 모두 파괴된다.

식물의 몇몇 hsp 유전자들을 클론해서 그들의 염기서열이 밝혀졌는데, 옥수수 hsp70 유전자의 코딩지역의 염기서열은 초파리의 hsp70 유전자의 그것과 약 70%가 상동성을 보였으며, 콩의 hsp18 유전자들도 초파리의 소 hsp (22-27Kd)의 것과 아주 유사하였다. 콩, 옥수수 및 아라비도시스등의 잠정적인 열자극 프로모터 (또는 열자극 조절요소 = HSEs)의 구조를 보면 "TATA" 박스의 예도 표1 에서 보듯이 초파리의 열자극 유전자의 조절부위 (*Drosophila* heat- shock consensus regulatory element : HSEs)인 CT-GAA-TTC-AG와 유사한 열자극 조절부위를 가지고 있다. 특히 콩의 Gm

Table 1. Comparison of soybean and *Drosophila* sequences: Potential proximal heat shock promoter or regulatory elements (HSEs)

Sequence	Source	Reference
CTyGAAnTTChAG or CnnGAAnTTChng	<i>Drosophila</i> consensus	Pelham, H. (1985)
(-61)CTcGAATgTTCgcG(-48)	<i>Drosophila</i> hsp70	Pelham, H. (1982)
(-57)CTaGtgTgTgtgAG(-44)	<i>Drosophila</i> hsp27	Ingholia, T. D. and E. A. Craig (1981)
(-60)CTcGAAagTaCtAt(-47)	Soybean hs6871	Schoffl, F. et al. (1984)
(-62)CTyGAAcaTaCaAG(-49)	Soybean Gmhspl7.5-E	Czarnačka, E. et al. (1985)
CTaGAAacTTCtAG	Soybean Gmhspl7-BR	Nagao, R. T. et al., unpubl. data
(-62)CTyGAAcgyTaCacG(-49)	Soybean Gmhspl7.5-M	Nagao, R. T. et al., (1985)
(-62)CTyGAAcaTaCaAG(-49)	Soybean Gmhspl7.6-L	Nagao, R. T. et al., (1985)
(-65)CTyGAAaacaCcAG(-52)	Soybean Gmhspl8.5-V	Nagao, R. T. et al., unpubl. data
(-87)aTyGAttcTTCaAG(-74)	Soybean Gmhspl22-K	Nagao, R. T. et al., unpubl. data
aTyGAccgTTtAaa	Soybean Gmhspl26-G	Nagao, R. T. et al., unpubl. data Czarnačka, E. et al., unpubl. data
(-63)CCcGAAtcTTCtgg(-50)	Maize HSF70	Rochester, D. E. et al., (1986)
(-61)aTyGAAacTctAG(-49)	<i>Arabidopsis</i> HSF70-1	Somerville, C. et al., unpubl. data
CTyGAAacTcaAG	<i>Arabidopsis</i> HSF70-2	Somerville, C. et al., unpubl. data

Proximal HSE represents the sequence having the greatest homology to the *Drosophila* consensus positioned just upstream of the TATA box; most soybean genes sequenced to date have multiple HSEs positioned 5' to this proximal element and often overlapping HSEs.

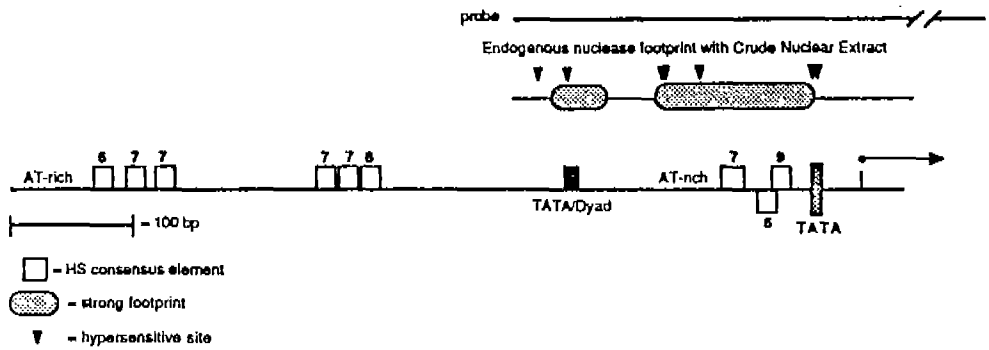


Fig. 5. Summary of DNase I footprint mapping of the *Gmhsp17.5-E* promoter. Nuclear extracts (S-100) were prepared from dark grown soybean plumules and incubated *in vitro* with 3' end-labeled DNA restriction fragments from the 5'-flanking region of the gene and varying concentrations of DNase I.

hsp 17.5-E HS 프로모터의 구조를 보면 그림 5 에서 보듯이 "TATA" 박스도 두군데에 있고 HSEs도 여러군데에 있으며, HSP 유전자의 프로모터에 결합할 수 있는 단백질이 핵의 추출물속에 존재한다는 것도 밝혀졌다.

(3) 빛에 의한 조절

광합성에 관련된 많은 유전자들의 전사는 광에 의하여 조절된다. 광에 의한 전사조절의 첫단계는 photoreceptor에 광이 흡수되는 것이나, 광을 흡수한 photoreceptor의 다음작용에 대하여는 거의 알려져 있지 않다. 이문제를 해결 하기위한 최근의 연구동향을 보면, 첫째 광과 전사 (transcription)와의 관계를 분자생물학적으로 연구하고, 둘째 광에 의하여 전사가 조절되는 유전자의 구조 등을 분석하는 일이다. 광에 의하여 전사가 조절되는 대표적인 유전자로는 Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase의 small subunit (RbcS) 유전자와 Chlorophyll a/b binding protein (Cab protein)의 유전자를 들 수 있다.

광에 의한 이들 두유전자 발현의 조절기작을 구명하기위한 연구과정에서 이들 두

유전자 발현의 조절부위도 부분적으로 밝혀졌다. 또한 RbcS는 multigene family로부터 만들어지며, 이들 각유전자들의 발현은 기관이나 조직의 종류에 따라서 그리고 같은 기관이라 하더라도 발생시기에 따라서 그들의 발현양상이 각각 다르다는 것도 밝혀져 있다. 즉 RbcS 유전자들의 발현은 발생 및 기관특이성을 가지고 있음이 밝혀졌다.

2. 해독과정에서 유전자 발현의 조절

고등식물의 mRNA의 수명은 원핵생물의 것에 비하여 현저히 길다. 따라서 고등식물의 유전자발현은 전사수준에서 뿐만 아니라, 단백질의 생합성시발체 형성능과 단백질생합성의 신장속도가 조절됨으로써 해독과정에서도 조절된다. 해독과정에서 유전자의 발현을 조절하는 요인으로는 여러가지가 있겠으나, 본고에서는 phytohormone과 광에 의한 조절현상만을 살펴 보겠다. 관속식물의 색소체 개능에는 광에 의하여 해독과정이 조절됨으로써 전체 유전자의 발현이 조절되는 유전자들이 많이 있다. *Amaranthus* (비름속) 자엽 이나 *Spirodella Spirodella* (개구리밥속)을 암처리하면, *Amaranthus*의 rbcL mRNA 나 *Spirodella*의 psbA mRNA의 양은 일정하게 유지되나, rbcL mRNA 와 psbA mRNA의 해독량은 현저히 감소된다. 그러나 이러한 해독의 억제가 해독의 시발체형성 과정에서 억제되는 것인지 또는 해독의 신장과정에서 억제 되는 것인지는 밝혀지지 않았을 뿐만 아니라, 이들 두 mRNA의 해독억제 현상이 색소체내에서 진행되는 해독과정의 전반적인 억제현상의 일부분인지 특별히 그것들만 억제되는 것인지도 모르고 있는 실정이다. 또한 보리의 엽록체 발생 과정에서 P700 chlorophyll a apoprotein은 그림 6 에서 보듯이 chlorophyll a apoprotein 유전자 mRNA 양은 광에 의하여 아무런 변화를 보이지 않으나, chlorophyll a 단백질은 조사 2시간후에는 그림에서와 같이 그의 합성이 유도된다.

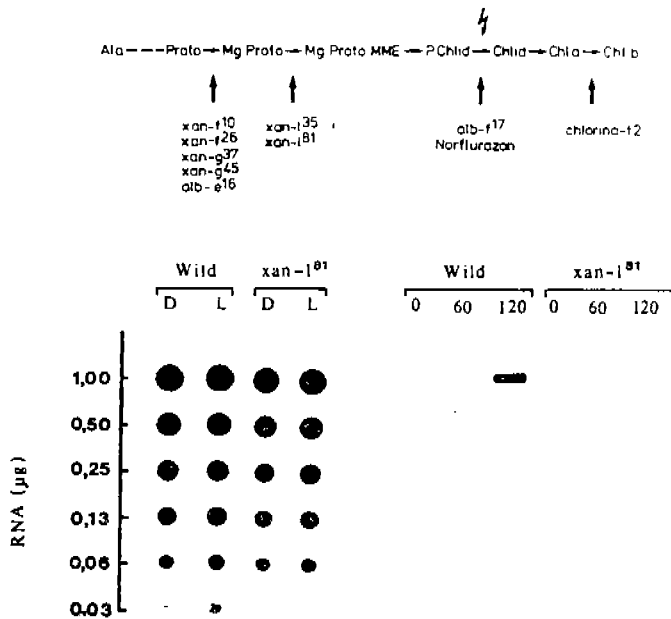


Fig. 6. Light-dependent changes in the amounts of mRNA and of the freshly synthesized P700 chlorophyll *a* apoprotein in wild type and the *xantha-181* mutant of barley. RNA levels in dark-grown (D) and illuminated (L) plants were determined by dot-blot hybridization. The synthesis of the apoprotein was determined by feeding ³⁵S-methionine for 4 h to dark-grown leaves. During incubation leaves were kept in the dark (O) or exposed for the last 60 (60) or 120 (120) min to continuous white light. The labelled apoprotein was immuno-precipitated from total leaf extracts, separated electrophoretically and visualized by autoradiography. The upper part of the figure illustrates the step of chlorophyll biosynthesis which is blocked in the *xantha* mutant.

Table 2. Effect of GA₃ on the amount of cAMP in 2-cm maize shoots

	Concentration of cAMP		Rate of increase (%)
	pmol/g dry wt	pmol/g fr wt	
Control	65.30 ± 7.2	8.09 ± 0.89	325
+GA ₃	212.16 ± 19	26.33 ± 2.35	

Crude cAMP sample prepared from maize seedlings, with GA₃ treatment and without, was analyzed by HPLC. Each value represents the mean of three independent determinations ± standard error.

Table 3. Effect of GA₃ on the activities of ribosome and S-100 for the poly U-dependent polyphenylalanine synthesis

Complete system including:	Incorporation of ¹⁴ C-phenylalanine (cpm/mg ribosome)
ribosome ^a , S-100 ^a	2,148
ribosome ^b , S-100 ^a	10,039
ribosome ^a , S-100 ^b	9,141

The ribosomes were isolated from the preincubated S-30. The reaction mixture for in vitro protein synthesis contained 0.512 A₂₆₀ units of ribosome, 0.60 A₂₆₀ units of S-100 proteins, 60 μg of tRNA, 200 μg of poly U and 0.35 μCi ¹⁴C-phenylalanine. The incubations were performed at 35°C for 60 min. The data shown here are the mean value of 3 experiments.

^a Ribosome and S-100 were isolated from the seeds treated without GA₃.

^b Ribosome and S-100 were isolated from the seeds treated with 0.3 mM GA₃.

Table 4. Effect of GA₃ on the activities of the factors EF-1 and EF-2 for the poly U-dependent polyphenylalanine synthesis

Elongation factors added to incubation mixtures	Incorporation of ¹⁴ C-phenylalanine (cpm/mg ribosome)
EF-1 and EF-2	1,758
EF-1 ^a + EF-2 ^a	2,592
EF-1 ^b + EF-2 ^a	3,840
EF-1 ^a + EF-2 ^b	4,128
EF-1 ^b + EF-2 ^b	4,216

EF-1 and EF-2 were isolated from the germinating seeds treated with and without 0.3 mM GA₃. The reaction mixture for in vitro protein synthesis contained 2.56 A₂₆₀ units of ribosome isolated from seedlings treated without GA₃, 1.53 A₂₆₀ units of S-100 prepared from control seedlings, 60 μg of tRNA, 200 μg of poly U, 0.35 μCi ¹⁴C-phenylalanine, 0.12 mg EF-1 and 0.11 mg EF-2. The reaction mixtures were incubated at 35°C for 60 min. The data shown here indicate the mean value of 3 experiments.

^a EF-1 and EF-2 were isolated from the germinating seeds treated without GA₃.

^b EF-1 and EF-2 were isolated from the germinating seeds treated with 0.3 mM GA₃.

이는, chlorophyll *a* apoprotein 유전자의 발현은 광에 의하여 해독수준에서 조절된다는 것을 입증해 주는 것이다. 또한 유전자 발현의 해독과정이 photohormone에 의하여 조절되기도 한다. 발아중의 옥수수에 GA₃를 처리하면 표2 에서 보듯이 cAMP의 양이 증가함과 동시에 표3과 표4 에서 보듯이 단백질 생합성에 필요한 여러가지

물질들 즉, ribosome, elongation factors, EF-1과 EF-2의 활성이 현저히 증가됨으로써 유전자의 발현이 해독수준에서도 조절됨을 입증해 주고 있다.

3. 조직특이성 유전자 발현

모든 유전자가 모든세포에서 다 발현하는 것은 아니다. ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (rbc)의 small subunit (rbcS)와 chlorophyll a/b binding protein (Cab 결합단백질) 유전자 그리고 여러가지 종류의 종자 저장 단백질 유전자들은 발생시기에 따라서 시차적으로 그들의 발현이 조절될 뿐만 아니라 기관이나 조직의 종류에 따라서 그들의 발현이 조절된다. 발생시기 및 조직특이성 유전자 발현의 조절기작이 자세히 밝혀진 사례는 별로 없고, 다만 몇가지 단편적인 사실이 밝혀져 있다. 보리의 경우, cab 유전자들은 주로 잎에서 많이 발현되는 조직특이성을 보이는데 그 이유는 기관이나 조직의 분화와 동시에 특정유전자가 선별적으로 발현될 수 있도록 chromatin의 구조가 변하기 때문인 것으로 밝혀졌다. 또한 종자의 저장단백질 유전자나 rbcS 유전자들은 multigene family를 이루는데, 한 multigene family에 속하는 개개의 유전자발현도 조직특이성을 보인다. 실례를 들면, 토마토를 비롯한 여러식물의 rbcS 유전자는 rbcS-1, -2, -3A, -3B 및 -3C 등 5가지 유전자로 구성된 multigene family를 이루고 있는데, 토마토의 경우 이중 rbcS-3B와 rbcS-3C 유전자는 광조사 직후에 잎등에서 그의 발현이 유도 되나 암처리한 seedling이나 미성숙 과일에서는 전혀 발현이 안된다. 이에 비해 rbcS-1과 rbcS-2 유전자는 암처리한 seedling이나 미성숙 과일에서만 선택적으로 발현된다. 이에대한 이유는, multigene family에 속하는 각 유전자의 조절부위의 DNA 염기서열이 서로 다르기 때문으로 밝혀졌다.

결 론

고등식물의 개놈은 대단히 크고 복잡하기 때문에 유전자 발현의 조절 기작에 대한 연구가 미진한 상태였었다. 그러나, 1970 년대초에 제한효소가 발견된이후 계속적으로 발전해온 DNA 재조합기술과 Ti-plasmid를 이용한 plant binary vector 등의 개발에 힘입어 식물 유전자 발현의 조절기작에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 그에따라 밝혀진 몇가지 연구결과를 소개하면 다음과 같다.

첫째, 염록체 유전자를 비롯한 몇몇 유전자가 클론되었다.

둘째, 몇몇 유전자의 전사조절부위의 구조를 밝혔고, 나아가서 transposable elements에 의하여 새로운 조절부위가 생성됨을 확인하였다.

셋째, 식물의 유전자 발현은 전사수준에서 뿐만 아니라 해독수준에서도 조절된다.

넷째, 식물유전자 발현은, 발생시기나 조직의 분화에 따른 염색사구조의 변화 및 phytohormone 등의 내적요인과, 공기, 물, 열, 염과 이온농도 그리고 빛 등 외적요인에 의하여 조절된다.

이상과 같은 단편적인 사실들은 밝혀졌으나, 유전자 발현의 조절기작이 체계적으로 밝혀진 것은 거의 없다. 그러나 연구비 지원만 뒷바침되면, 유전자 발현의 조절기작이 보다 구체적으로 밝혀질 것으로 확신하는 바이다.

참 고 문 헌

1. Andy Pereira, Heinrich Cuypers, Alfons Gierl, Zsuzsanna Schwarz-Sommer and Heinz Saedler, 1986, Molecular analysis of the En/Spm transposable element system of *Zea mays*, EMBO J. vol. 5, no. 5, pp. 835-841
2. Barbara Kloeckener-Gruissem and Michael Freeling, 1988, Relationship between anaerobic inducibility and tissue-specific expression for the maize anaerobic genes, in "Plant Molecular Biology", D. von Wettstein and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 293-303
3. Baumann, G., Raschke, E., Bevan, M., and Schoffl, F., 1987, Functional analysis of sequences required for transcriptional activation of a soybean heat shock gene in transgenic tobacco plants, EMBO J., vol. 6, pp. 1161-1166
4. Bruce, W. B., and Gurley, W. B., 1987, Functional domains of a T-DNA promoter active in crown gall tumors, Mol. Cell. Biol., vol. 7, pp. 59-67
5. Cris Kuhlemeier, Pamela J. Green, and Nam-Hai Chua, 1987, Regulation of gene expression in higher plants, in "Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.", Briggs, Jones, Walbot, eds. vol. 38, pp. 221-275
6. D. J. Simpson, R. Bassi and U. G. Hinz, 1988, cell-specific expression of LHC II and the organization of the photosynthetic reaction centres in chloroplast thylakoids, in "Plant Molecular Biology" D. von Wettstem and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 93-104
7. E. Fish, U. Kuck and L. Bogorad, Two partially homologous adjacent light-inducible maize chloroplast genes encoding polypeptides of the P700 chlorophyll *a* protein complex of photosystem I. J. Biol. Chem., vol. 260, pp. 1413
8. Egon Mosinger, Alfred Batschauer, Eberhard Schafer and Klaus Apel, 1985, Phytohormone control *in vitro* transcription of specific genes in isolated nuclei from barley, Eur. J. Biochem. vol. 147, pp. 137-142
9. E. Mosinger, A. Batschauer, R. Vierstra, K. Apel and E. Schafer, *in-vivo* irradiation on *in-vitro* transcription in isolated nuclei from barley, Planta, vol. 170, pp. 505
10. Enrico S. Coen, Tim P. Robbins, Andrew Hudson, Jorge Almeida, Cathie Martin and Rosemary Carpenter, 1988, Effects of transposable elements of spatial patterns of gene expression in *Antirrhium majus*, in "Plant Molecular Biology", D. von Wettstein and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 167-180
11. Gordon Inamine, Barbara Nash, Herbert Weissbach, and Nathan Brot,

- 1985, Light regulation of the synthesis of the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in peas : Evidence for translational control, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 82, pp. 5690-5694
12. Heinz Saedler and Zsuzanna Schwarz-Sommer, 1988, Transposable elements and their role in plant evolution, in "Plant Molecular Biology", D. von Wettstein and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 163-166
 13. Hinz, U. G. and K. G. Welinder, 1987, the light-harvesting complex of photosystem II in barley. *Carlsberg Res. Commun.* 52, 39-54
 14. Joe L. Key, Ron T. Nagao, Eva Czarnecka, and William B. Gurley, 1988, Heat stress : Expression and Structure, in "Plant Molecular Biology", D. von Wettstein and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 385-397
 15. John E. Mullet, 1988, chloroplast development and gene expression, in "Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.", Briggs, Jones and Walbot, eds. vol. 39, pp. 475-502
 16. Kato, K., Sayer, R. T. and Bogorad, L., 1987, Expression of the PSII-I gene in maize chloroplasts(in Japanese), *Proc. Ann. Meeting Jpn. Soc. Plant Physiol.*, Urawa
 17. Klaus Apel, Egon Mosinger, Klaus Kreuz, Katayoon Dehesh, Alfred Batschauer and Eberhard Schafer, 1988, Light dependent regulation of gene expression in barley, in "Plant Molecular Biology", Diter von Wettstein and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 53-63
 18. Klaus Steinmuller, Alfred Batschauer and Klaus Apel, 1986, Tissue-specific and light-dependent changes of chromatin organization in barley, *Eur. J. Biochem.* 158, 519-525
 19. Kreuz, K. Dehesh and K. Apel, 1986, the light-dependant accumulation of the P700 chlorophyll *a* protein of photosystem I reaction center in barley. Evidence for translational control, *Eur. J. Biochem.*, vol. 159, pp. 459
 20. Mamoru Sugita and Wilhelm Gruissem, 1987, Developmental, Organ-Specific, and light-dependent expression of the tomato ribulose- 1.5-bisphosphate carboxylase small subunit gene family, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 84, pp. 7104-7108
 21. Martin M. Sachs and Tuan-Hua David Ho, 1986, Alteration of gene expression during environmental Stress in plants, 1988, in "Ann. Rev. plant physiol. Plant Mol. Biol.", Briggs, Jones and Walbot, eds. vol. 37, pp. 363-376
 22. Masahiro Sugiura, Kazuo Shinozaki, Minoru Tanaka, Nobuaki Hayashida, Tatsuya Wakasugi, Tohru Matsubayashi, Chikara Ohto, Keita Torazaula, Bing Yuan Meng. Tadashi Hidaka and Norihiro Zaita, 1988, Split Genes and cis/trans splicing in tobacco chloroplasts, in "Plant Molecular Biology", Diter von Wettstein and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 65-73
 23. Nevers, P., Shepherd, N. and Saedler, H., 1986, *Advances in Botanical*

research, 12, 103-203

24. Laurence Jacob, 1988, Analysis of gene organization and expression in plants, in "Plant Genetic Transformation and Gene Expression", John Draper, Roberick Scott, Philip Armitage, Richard Walden, eds. Blackwell Scientific Publications, pp. 262 -332
25. Scott, R. J. and Draper, J., 1987, Transformation of carrot tissues derived from proembryogenic suspension cells : A useful model system for gene expression studies in plants. Plant Mol. Biol, vol 8, pp. 265-274
26. Vierling and R. S. Alberte., 1983, Regulation of synthesis of the photosystem I reaction center, J. Cell Biol., vol. 97, pp. 1806
27. Westhoff, J. Alt, N. Nelson, W. Bottomley, H. Bunnemann and R. G. Herrmann, 1983, Genes and transcripts for the P700 chlorophyll *a* apoprotein and subunit 2 of the photosystem I reaction center complex from spinach thylakoid membranes, plant Mol. Biol., vol. 2, pp. 95
28. Wilhelm Gruissem, Xing-Wang Deng, Helen Jones, David Stern, John Tonkyn and Gerard Zurawski, 1988, in "Plant Molecular Biology", D. von Wettstein and Nam-Hai Chua, eds. Plenum Press, pp. 135-148
29. Woong-Seop, Sim and Hong-Rip Kim, 1987, Effect of GA3 on the Cyclic AMP Biosynthesis in maize seedling, Plant Cell Physiol., vol. 28, no. 3, pp. 415-420
30. Woong-Seop, Sim and Kwang-Soo Rho, 1985, Effect of GA3 on the Activities of ribosome and elongation factors EF-1 and EF-2, Plant Cell Physiol., vol. 26, no. 4, pp. 729-735

저 자 약 력

심 응 섭 (沈雄變) 박사

- 1937. 11. 19. 생
- 1964. 2. 고려대학교 생물학과 (이학사)
- 1966. 2. 고려대학교 대학원 생물학과 (이학석사)
- 1973. 2. 서독 Bonn대학교 (Ph. D.)
- 1973. 2 - 75. 2. 서독 Bonn대학교 연구원
- 1975. 2 - 현 재 고려대학교 생물학과 교수
- 1987. 6 - 8. 서독 Bonn대학교 및 Max Plank연구소 방문교수
- 1987. 12. - 89. 1. 미국 Washington대학교 교환교수