

곰팡이의 형태분화 —*Aspergillus nidulans*를 중심으로—

장 광 업

전북대학교 자연과학대학 생물과학부

서 론

지난 수년동안 유전학, 분자생물학 및 생화학적 기법의 발달로 생물체에서 단순한 구조로부터 보다 복잡한 구조로 변해가는 과정을 연구하는 분화생물학 분야에 많은 발전이 이루어졌다. 특히 분화생물학 분야에 대한 연구 대상으로 복잡한 고등 동식물보다는 비교적 다루기가 쉽고 유전학적 및 분자생물학적 분석이 용이한 하등 진핵생물이 많이 이용되었다. 이로 인해 점균류(*Dictyostelium*)를 비롯하여 *Aspergillus*와 같은 곰팡이에서 형태변화에 따른 분화과정이 분자수준에서 상당부분 해석되었다.

일반적으로 곰팡이에서의 형태분화는 하나의 포자가 발아하여 형성하는 균사체의 증식을 포함하여 균사체의 일부가 분화하여 최종적으로 무성포자를 형성하거나 혹은 감수분열과정을 거치며 만들어지는 유성포자가 형성되는 과정으로 대별된다.

*Aspergillus nidulans*는 자웅동체 자낭곰팡이(homothallic ascomycetes)인데, 하등한 진핵생물이지만 무성포자를 형성하는 무성생활사와 유성포자를 형성하는 유성생활사를 모두 가지고 있으며, 원핵생물의 원시적인 조절기작뿐만 아니라 고등한 진핵생물의 정교한 조절체제도 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 간단한 합성배지에서도 잘 성장하고, 성장중 무성생식기구나 유성생식기구와 같은 잘 분화된 구조물을 형성하는 비교적 단순한 생활사를 가진다. 특히 무성과 유성생활사 외에도 독특한 준유성생활사(parasexual cycle)를 가지고 있어 유전학적, 생화학적 분석이 용이하다. 분자생물학적 기술의 도입으로 최근에 *A. nidulans*의 무성과 유성분화에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 발표에서는 곰팡이 *A. nidulans*에서 최근에 알려진 분화과정에 대해 집중적으로 논의한다.

1. *Aspergillus nidulans*의 생활사

불완전균류(*fungi imperfecti*)를 제외한 대부분의 곰팡이류는 일반적으로 유성 및 무성생식의 이중 생활사를 갖는 것으로 알려져 있다. 이들의 성장세포(vegetative cell)의 핵상은 단수체이고, 이배체의 핵상은 생활사중 단지 유성생식 과정에서 일시적으로 나타날 뿐이다. *A. nidulans*는 핵상의 변화로 보면 3종류의 생활사를 가지는데, 단수체로 핵상의 변화가 없는 무성생식(Fig. 1의 A), 단수체에서 이배체로 되었다가 감수분열에 의해 단수체로 변하는 유성생식(Fig. 1의 B), 그리고 이배체가 염색체 수가 감수분열에 의하지 않고 nondisjunction에 의하여 줄어 들어 단수체화하는 준유성생식(parasexual cycle, Fig. 1의 C)이 그것이다(Pontecorvo 1953). 무성생식은 균사의 어느 세포 하나가 발세포(foot cell)로 분화되고 이 세포로부터 분지한 자루(stalk)가 vesicle로 분화되고 이 곳에서 metula와 phialide를 형성하는데, phialide 안에서 체세포분열(mitosis)에 의하여 핵분열이 일어난 후 무성포자(conidia)를 형성하고 다시 이 무성포자가 발아하여 균사를 형성하는 생활주기를 말한다. 이 과

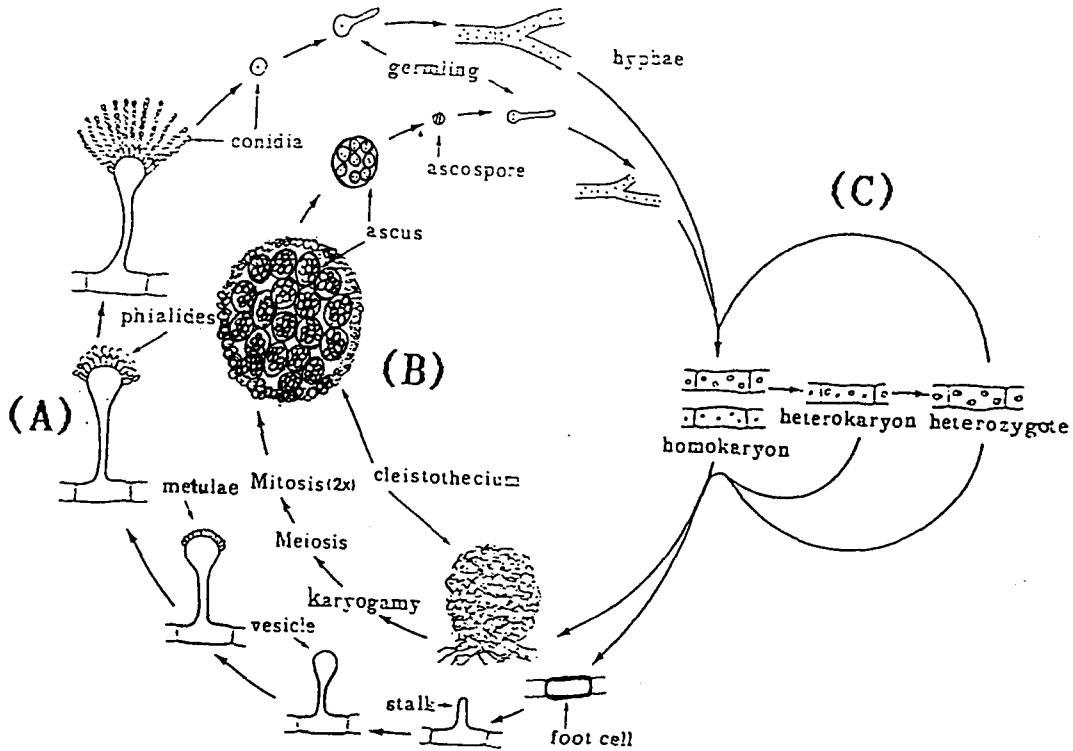


Fig. 1. The life cycle of *Aspergillus nidulans*. (A) asexual reproduction, (B) sexual reproduction and (C) parasexual reproduction.

정에서는 체세포분열(mitosis)에 의해 증식이 일어나며 균사의 형태가 변하여 무성생식기구가 만들어지고 최종적으로 conidia가 형성되는데, 이렇게 만들어진 conidia의 세포주기상태는 G₁단계이다(Bainbridge *et al.* 1971). 유성생식과정에서는 서로 다른 균사끼리 세포가 융합하여 다핵균사(coenocytic hyphae)를 형성하고 이들은 이핵상(dikaryon)의 자낭균사(ascogenous hyphae)로 분화한다. 자낭균사 안의 두 개의 핵은 서로 융합(karyogamy)하여 이배체가 만들어지고 이들이 감수분열(meiosis)을 거치게 되며 감수분열 후 체세포분열에 의해 한 자낭(ascus) 안에 8 개의 자낭포자(ascospore)가 생성된다. 균사끼리의 세포융합 후의 모든 과정은 불임의(sterile) 균사체에 의해 생성된 cleistothecium 내부에서 일어난다.

또한 아주 낮은 빈도로(약 10⁻⁷) 성장균사(vegetative hyphae)의 한 세포내에서 핵융합이 일어나 이배체의 핵이 생성되는 경우가 있는데, 이 이배체의 핵을 지닌 균사가 때로는 무성생식에 의한 생활사를 거칠 수 있다. 그러나 이배체는 불안정하기 때문에 체세포분열 중 염색체가 이동하는 과정에 nondisjunction이 자주 일어남으로써 이수체(aneploid)가 생성되고 이 이수체 역시 정상적인 성장을 하지 못함으로 단수체가 될 때까지 염색체를 상실해 간다. 이 때 상동염색체는 무작위적으로 상실됨으로써 재조합 단수체가 생성될 수 있어 이 과정을 준유성생식이라 한다.

2. 무성분화과정

A. *nidulans*의 유무성 단계를 막론하고 분화의 첫 단계는 포자로부터 균사가 형성되는 발아과정이라 할 수 있

는데, 이때는 물론 체세포분열에 의하여 균사의 각 세포안에 핵분열이 일어남으로서 각 균사절 (septum)마다 일정한 수의 핵이 존재하게 된다. 이와 같이 각 균사절에서 일정한 수의 핵이 배열된다는 것은 이 과정이 유전적 조절에 의한다는 것을 의미한다. 한편 유전자 *apsA*(anucleate primary sterigmata)는 Clutterbuck (1969)에 의해 처음 보고된 바가 있었는데, 이 유전자가 균사에서 핵의 배열에 관여한다고 알려졌다(Clutterbuck 1994).

*A. nidulans*의 무성생식기구인 무성포자자루(conidiophore)가 만들어지는데 있어서 최초의 단계는 발세포의 형성이다. 정상적 성장을 하는 균사세포(hyphal cell)중 어떤 세포가 발세포로 변하는데, 발세포를 다른 성장세포와 쉽게 구별할 수 있는 방법이 아직 개발되어 있지 않기 때문에 발세포에 관한 지식은 알려진 것이 거의 없다. 다만 발세포의 세포벽이 다른 성장세포의 그 것과 비교할 때 더 두껍다는 사실이 알려져 있을 뿐이다. *A. nidulans* 발세포의 세포벽은 2개층으로 구성되어 있고 외층은 발세포로부터 가지를 만들어 형성되는 무성포자자루 세포벽과 연결되어 있음이 보고되어 있다(Oliver 1972).

A. nidulans 무성포자를 액체배지에서 배양하면 발아하여 균사생장을 하지만 무성포자자루를 형성하는 무성분화과정은 나타나지 않는다. 그러나 이런 상태의 균사를 고체배지로 옮기면 무성분화가 시작되는데 최초 무성포자를 배양하기 시작한 시각으로부터 최소한 24시간이 지난 후라야 무성포자자루가 형성되기 시작하며, 고체배지로 옮기는 시각이 20시간 이후일 경우에는 그 후 적어도 4시간 후에 무성분화가 시작된다(Axelrod *et al.* 1973). 이러한 사실은 균사체의 나이를 인지하는 조절체계가 있음을 시사하며 이 과정에는 자체적으로 신호물질을 합성하는 단계가 있을 것으로 추정되고 있다(Lee and Adams, 1994).

무성포자자루의 길이가 일정한 수준으로 성장하면 끝 부분이 팽창하고 세포벽이 두꺼워지면서 vesicle을 형성하는데, 이 부분에는 무성포자자루형성시 진행된 핵분열(mitotic division)로 만들어진 다수의 핵들이 모여 있다. 그 후 vesicle 표면의 여러 곳에서 출아(budding)하여 각 bud안에 한개씩의 핵이 들어가야만 각 bud는 metula로 분화가 되기 때문에 이 현상을 분화확인점(developmental checkpoint)이라고 한다(Losick and Shapiro 1993). *apsA*⁻ 돌연변이에서는 metula안에 핵이 들어가지 못하는데, 이로 인해 분화가 이루어지지 않고 분화에 필요한 유전자의 활성화도 이루어지지 않는다고 알려졌다(Fischer and Timberlake 1995). metula는 다시 출아하여 phialide를 형성함과 동시에 metula 내에서는 핵이 분열하여 분열된 핵은 형성되는 phialide안으로 이동한다. 여기에서 무성포자세포가 출아법으로 형성되고 이것이 성숙하여 conidia로 완성된다. 이때 Phialide 내에서 핵분열이 일어나고 새로이 만들어진 핵중 하나가 conidia에 전달되어 하나의 핵을 갖게 되는데 이 핵은 더 이상 분열하지 않고 G1 상태로 남아있게 된다. 한편 phialide에 남아 있는 나머지 하나의 핵은 핵분열을 반복하여 새로운 conidia를 형성하고 직전에 만들어진 conidia와 사슬구조를 형성한다. 이와 같은 현상이 phialide에서 반복하여 일어나 결국 기다란 conidia 사슬이 phialide에 달려있는 구조가 형성된다(Fig. 1의 A 참조).

이상에서 살펴 본 바와 같이 무성포자인 conidia가 형성되는 과정은 conidia가 발아하여 균사생장을 시작한 후 균사세포로부터 발세포형성, 무성포자자루형성, vesicle형성, metula출아, phialide형성, 그리고 맨 마지막으로 반복된 conidia형성과 같은 일련의 분화과정을 거침으로써 완성된다. 위와 같은 여러가지 형태적 변화를 분자적 수준에서 설명하기 위해 각 과정에 관여하는 유전자의 돌연변이주가 분리되었으며(Clutterbuck 1969), 이를 토대로 유전자를 분리하고 이들 유전자에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

3. 무성분화과정의 유전적 조절

유전학적 및 생화학적 분석 결과에 의하면 conidia형성에는 여러가지 유전자의 발현이 요구되는 것으로 알려지고 있지만 이들의 생리적 기능이나 조절기작에 관한 정보는 많지 못한 실정이다(Timberlake and Marshall 1988). conidia형성에 관한 돌연변이를 이용한 분석은 주로 Martinelli (Martinelli and Clutterbuck 1971)와 Clutterbuck(1969, 1977)에 의해서 시도되었는데 적어도 약 200개의 유전자가 필요할 것으로 추정하였다. 무성

분화과정을 진행하고 있는 균체로부터 mRNA를 얻어 이에 대한 cDNA를 만들어 계산할 결과는 약 1,200개의 유전자가 요구된다고 알려졌는데(Timberlake 1980), 이는 전체 genome의 6%정도를 차지하는 양이다. 이중 포자형성과정에 특이하게 작용하는 유전자는 대략 300여종으로 추정되고 있다. 이와 같은 결과는 적어도 mRNA 수준에서 볼 때 상당히 많은 양의 유전정보가 무성분화과정에 이용된다는 사실을 시사한다. 이들 중 *yA*, *trpC*, *brlA*, *abaA*, *wetA*, *stuA*, *medA* 등이 주로 알려져 있는데, 특히 *yA*를 제외한 위 여섯 유전자 각각에 돌연변이가 일어나면 정상적인 conidia나 무성포자자루가 형성되지 않는 것으로 보아 이들 유전자가 분화에 직접적으로 관계하고 있는 것으로 생각되고 있다(Clutterbuck 1969; Martinelli and Clutterbuck 1971). 또한 이들 유전자의 기능을 상실한 돌연변이(loss of function mutant)는 대부분 비정상적인 형태로 분화가 이루어지는 표현형을 보이기 때문에 이들 유전자산물은 분화과정을 조절하는 기능을 갖는다고 할 수 있다 (Boylan *et al* 1987, Adams *et al* 1988, Mirabito *et al* 1989, Miller *et al* 1991 and 1992, Aramayo and Timberlake 1993, Andrianopoulos and Timberlake 1994).

유전자 *yA*는 conidia의 색깔을 결정하는데 이용되는 것으로 야생형의 conidia가 암록색인데 비해 돌연변이 *yA2*는 노란색의 conidia를 형성하며 Pontecorvo(1953)에 의해 처음으로 보고되었다. conidia의 색을 결정하는데 관여하는 유전자는 이외에도 *wa*, *fwA*, *dila*, *chaA*, *drkA* 등이 알려져 있고 이들의 발현이 분화과정에 따라 조절되리라는 가능성은 보고된 바가 있지만(Clutterbuck 1974, 1977), 이들은 형태적 변화를 유도하는데 쓰인다고 보다는 색을 형성하는 생화학경로에 관여하리라 생각된다. 실제로 *yA*는 laccase를 coding하는 유전자로 알려졌고(Clutterbuck 1972) *yA* 돌연변이주도 정상기능의 conidia를 형성할 수 있다(Clutterbuck 1969).

또한 형태변화에는 직접 관계하지 않으나 분화과정에 따라 조절되는 유전자중의 하나가 *trpC*인데, 이 유전자는 tryptophan 합성경로에 관여하지만 이 유전자의 돌연변이는 정상적인 포자형성이 이루어지지 않는 것으로 미루어 tryptophan 혹은 tryptophan 합성경로의 어떤 중간대사물 혹은 tryptophan으로 부터 유도되는 어떤 물질이 conidia형성에 필요할 것이라 생각된다(Yelton *et al.* 1984).

brlA 돌연변이는 정상적인 무성포자자루를 형성하지 못하는데, 특히 무성포자자루의 생장이 멈추지 않아 vesicle이 형성되지 못하고 따라서 metula가 만들어지지 않는다(Clutterbuck 1969). 이 유전자의 transcript의 양은 무성포자자루 형성과정에 따라 조절되고 (Boylan *et al.* 1987), 이 유전자를 군사생장을 하는 세포에서 인위적으로 발현시키면 군사생장이 중단되고 생존력 있는 conidia를 형성할 뿐 아니라 *abaA*, *wetA*, *yA*와 같은 유전자들의 transcription이 유도된다(Adams *et al.* 1988). 유전자 *brlA*의 염기서열로부터 유추된 단백질의 amino acid서열에는 Zinc-finger 구조가 포함되어 있음이 밝혀졌는데(Adams *et al.* 1988), 유전자 *brlA* 생성물이 DNA 결합단백질이라는 가능성을 내포한다. 이같은 사실은 유전자 *brlA*가 무성포자자루 형성과정에 필요한 여러가지 유전자의 발현을 조절하는데 있어서 핵심적인 역할을 수행할 것이라는 가설을 성립케한다. *abaA* 돌연변이는 metula를 형성한 후 정상적인 conidia를 만들지 못하고 그 대신 여러개의 phialide가 metula에 달려있는 구조를 형성한다(Clutterbuck 1969; Mirabito *et al.* 1989). *abaA*를 군사세포에서 인위적으로 발현시키면 군사생장이 중단되고 *brlA*, *wetA*, 및 포자형성에 필요한 몇가지 유전자들의 transcription을 유도하지만 *brlA* 경우처럼 conidia를 형성하지는 못하였다(Mirabito *et al.* 1989). *abaA*의 활성화도는 *brlA*에 의해서 조절되지만 무성분화과정 중 후반기에 필요하며 무성포자자루, vesicle, metula, 혹은 phialide형성시기에는 요구되지 않는다. 따라서 정상적인 conidia가 형성되기 위해서는 *brlA*와 *abaA*가 순서대로 발현되어야 한다는 것을 의미한다. *abaA*의 염기서열로부터 유추된 단백질의 amino acid서열은 leucine zipper(Landschulz *et al.* 1988)와 유사한 부위가 존재함이 밝혀졌는데 이는 *abaA* 생성물 역시 DNA 결합단백질일 가능성을 내포하고 있다(Mirabito *et al.* 1989). *wetA* 돌연변이는 conidia를 형성하지만 conidia가 성숙과정에서 용해된다(Clutterbuck 1969; Adams *et al.* 1988). *wetA*는 *brlA*, *abaA*와 함께 작용하여 포자형성에 필요한 유전자들의 발현을 조절하지만 *brlA*, *abaA*의 발현을 조절하는 현상은 보여주지 못했다(Mirabito *et al.* 1989). 한편 위의 조절유전자들에 의해 발현이 조절되는 유전자들 중에 분화

에 관련된 유전자로 *wA*, *rodA*, *dewA* 등이 알려져 있는데 이들은 무성포자자루의 형태 또는 기능에 관여하는 것으로 알려졌다(Aramayo and Timberlake 1990 and 1993, Andrianopoulos and Timberlake 1994, Stringer and Timberlake 1994). 위의 여러 결과는 conidia형성에 필요한 여러가지 유전자들이 *brlA*, *abaA*, *wetA*의 경로를 거쳐서 발현되며, 이 세 유전자가 무성분화과정에 중추적 역할을 할 것이라는 가설을 뒷받침한다.

4. 유성분화과정

앞에서도 언급한 바와 같이 *A. nidulans*의 conidia를 받아시킨 후 고체배지에서 배양하면 먼저 균사생장이 이루어지고 무성포자가 형성된 후 유성포자가 형성되는 것으로 알려지고 있다. 그러나 유성포자형성에 무성포자형성의 선행이 필수적이지는 않는 것 같다. 그 이유 중의 하나가 무성포자형성이 억제되는 조건 또는 무성포자형성이 안되는 돌연변이균주에서 유성포자형성이 정상적으로 완성된다는 것이다. 어쩌든 정상적인 조건에서는 유성포자형성이 무성포자형성에 비해 시기적으로 늦게 나타난다. 따라서 유성포자인 자낭포자(ascospore)의 형성과정은 이미 많은 생장을 한 균사와 conidia로 인하여 정밀한 관찰을 하기가 어려운 관계로 자세하게 알려진 내용이 많지 않은 실정이다. 앞에서 설명한 바와 같이 자낭포자를 발생시키는 자낭은 cleistothecium 구조 안에 존재하는데 cleistothecium을 구성하는 세포들은 균사세포들의 집합체이다. 즉, 균사들이 생장을 하다가 뭉쳐져서 주머니구조를 형성하고 주머니 안쪽으로 균사가 자라며 이 균사간에 접합(anastomosis)이 일어나 crozier라는 독특한 이핵체 구조가 만들어진다. 이 crozier에서 핵융합이 일어난 이배체 세포가 자낭으로 발달하고 이 안에서 감수분열과 두번의 체세포분열을 각 자낭안에 이핵체인 자낭포자가 8개씩 만들어지게 되고 그 주위에 cleistothecium 외층이 형성되는 것으로 알려지고 있으며(Benjamin 1955; Ellis et al. 1973; Zonnevelt 1977), 이 층은 죽은 세포로 이루어져 있다. Cleistothecium의 초기 기관인 primordia가 발생할 시기에 일부 균사세포가 팽배되고 세포벽이 두꺼워진 거대 세포가 분화하여 후에 cleistothecium의 외부를 둘러싸게 되는데, 이를 Hulle 세포라 한다(Thom and Raper 1945). Hulle 세포의 기능은 아직 잘 알려져 있지 않지만, cleistothecia가 성숙해 감에 따라 세포질이 점차 사라지며 생존력을 상실해가는 것으로 보아 cleistothecia의 성숙과정에 영양분을 공급하는 기능을 가지고 있을 것으로 생각된다. 이러한 유성분화과정을 유도하는 signal이 무성분화의 경우와 동일한 세포 내적 프로그램에 의해 초래되는지에 대해서는 알려진 바가 없다. 다만 유성분화나 무성분화 모두 개체가 일정 시간 이상 성장하고 또 aerial mycelia가 발생한 다음에야 유도된다. 야생형의 경우 유성분화와 무성분화는 glucose를 탄소원으로하는 최소배지에서 서로 균형적으로 발생하나 이 균형은 외부적 요인에 의해 아주 민감하게 상실된다. 이러한 요인중엔 탄소원의 종류 또는 질소원의 종류와 양(Han et al., 1994), high osmolarity(Lee and Adams, 1994), 장파장의 빛(Mooney and Yager, 1990) 그리고 통기의 차단(Han et al., 1990)등이 포함되며 *veA* 유전자가 이들중 몇몇 요인에 대해 반응하는 것으로 알려져 있다(Han et al., 1994; Mooney and Yager 1990). 유성분화가 유도되는데 있어 *Aspergillus*의 무성분화나 *Saccharomyces* 또는 *Neurospora*의 유성분화와 다른 중요한 특징은 영양분의 고갈이 유성분화를 유도하는 것이 아니라는 점이다. 오히려 유성분화는 충분한 양의 탄소원과 질소원이 있을 때 더욱 잘 일어난다(Han et al., 1994). 이러한 현상은 *A. nidulans*의 유성포자 형성이 좋지않은 환경을 극복하기 위한 방법이라기 보다는, 좋은 환경일 때 유전적으로 다양한 자손을 생산해내기 위한 방편일 가능성을 시사하고 있다.

유성포자 형성과정의 초기 단계는 균사집합체의 형성인데, 그 원인이 단순히 균사생장 결과 균사의 밀도가 높아져 균사간의 접합이 일어나게 된 것인지 아니면 *Dictyostelium*처럼 cAMP같은 신호전달물질이 만들어져 균사들이 밀집하게 되는지 알려진 바가 없다. cleistothecium 외층 형성, 균사간의 접합, Hulle세포형성과 같은 현상이 동시에 혹은 어떤 순서로 나타나는지에 대해서도 보고된 바도 없다. 이에 대한 지식을 얻을 목적으로 cleistothecium이 형성되지 않는 돌연변이를 획득하려는 시도가 있었는데 정상적인 무성생식을 수행하는 반면

cleistothecium만을 형성하지 못하는 돌연변이를 얻지 못했다(Arlett 1960). 한편 Champe(1987)도 위와 유사한 실험을 시도하여 무성 및 유성포자를 형성할 수 없는 돌연변이 3종을 획득하여 분석하였는데 이들은 포자 형성과정의 초기에서 포자생성이 중단되어 있었다(Butnick *et al.*, 1984a; 1984b). 이 3 돌연변이 중 하나인 *acoB*는 배지에 phenol 화합물을 분비하는데 이 물질은 conidia 형성을 저해한 반면 유성포자 형성을 조기에 유발할 수 있음을 보여주었으며, 이 물질은 psi(precocious sexual inducer)이라 명명되었고 미세한 구조적 차이를 보이는 psiA, psiB, psiC 등 3종이 존재하였는데, 이들은 공통적으로 lactone 고리를 갖는 linoleic acid의 유도체들이며 분자량 278-296정도의 물질로 밝혀졌다(Champe *et al.* 1987; Champe and El-Zayat 1989). Champe는 유전자 *acoB*는 psi가 다음 단계의 물질을 합성하는 과정에 관여하리라 생각하고, psi는 유성생식과정에서 sexual hormone으로 작용하여 분화를 유도하는 물질이라는 가설을 제안하였다(Champe *et al.* 1987). 한편 곰팡이의 분화유도물질은 주로 유성포자형성을 유도하는 것으로 알려지고 있으며 아직 무성포자형성과정을 유도하는 물질은 보고되어 있지 않은 상황이다. 잘 알려진 곰팡이의 분화유도물질로 terpenoid와 peptide를 들 수 있는데, 전자의 예로 Mucorales의 trisporic acid, Achlya의 antheridiol, *Allomyces*의 sirenin 등을 들 수 있고 후자의 예로 *Saccharomyces cerevisiae*의 α 및 a 인자를 들 수 있다. 앞서서도 언급한 바와 같이 psiA, psiB, psiC 등이 *A. nidulans*의 유성분화과정을 유도하는 물질로 알려져 있다. psiB와 psiC는 무성포자형성을 억제하고 유성포자형성을 유도하는 물질로 알려져 있고 반면 psiA는 무성포자형성을 유도하는 것으로 보고되어 있다. 특히 psiA와 psiB, psiC의 농도비가 무성포자생성 혹은 유성포자생성을 결정하는 요인이라고 보고되었다. 즉 psiA의 농도가 psiB와 psiC에 비해 더 높으면 무성생식이 이루지고 반대의 경우에는 유성생식이 이루어진다고 보고되었다(Champe and Simon 1992).

5. 유성분화과정의 유전적 조절

무성분화과정을 조절하는 유전자에 대해서 연구는 비교적 활발히 진행된 반면 유성분화의 경우에는 유전자의 조절에 관한 연구가 거의 진행되어 있지 못한 형편이다. 유성분화과정은 무성분화과정보다 걸리는 시간이 길고 분화되는 세포의 종류도 다양하기 때문에 무성분화의 조절보다는 훨씬 복잡할 것으로 생각되고 있다. 따라서 유성분화가 이상이 있는 돌연변이들을 얻어내려는 시도가 있었는데 얻어진 돌연변이 중에는 단순히 분화과정이 잘못된 것보다는 유전자재조합과정(Fortuin, 1971) 또는 세포벽합성(Zonneveld, 1977)등에 이상이 있는 것들이 동반된 형질로서 알려져 왔다. 또한 몇몇의 무성포자 결손 돌연변이체가 cleistothecia도 형성하지 못하는 것이 보고되었고(Kurtz and Champe, 1981), 최근에 α -tubuline 을 암호화하는 유전자 중 하나인 *tubB* 유전자가 자낭포자 형성에 중요하게 작용한다는 결과(Kirk and Morris, 1991)가 알려졌을 뿐이다. 이렇게 유성분화과정에 특이하게 관여하는 유전자에 대한 연구가 미진한 까닭은 유성생식기관이 형성되기 이전에 무성포자가 무성하게 생성되어 나중에 형성되는 유성생식기관을 덮어버리므로 유성생식 돌연변이체의 대량분리가 난이하기 때문이다. 이러한 어려움을 해결하기 위하여 본 연구자들은 무성포자의 발생은 거의 억제하면서 유성분화에는 전혀 영향을 미치지 않는 조건을 찾아내었고, 이 조건하에서의 유성분화의 각단계에 이상이 생긴 돌연변이체를 대량으로 분리할 수 있게 되었다(Han *et al.* 1990). 유성분화에 이상이 생긴 돌연변이를 크게 3개군, 즉, 유성분화가 전혀 일어나지 않는 NSD(never in sexual development), 유성분화과정의 일정단계에서 중단된 BSD(block in sexual development) 그리고, 유성분화가 최종까지 진행되지만 그 양이나 생성 시기가 야생형과 다른 ASD(abnormal in sexual development)로 분류하였다(Han *et al.*, 1990). 이 중에서 *nsd* 유전자들은 유성분화의 초기단계에 작용하거나 유성분화가 일어나기 위한 세포내 조건 형성과정에 관여하는 유전자들일 것으로 생각된다. 4개의 complementation group이 동정되었고 이들중 *nsdD* 유전자가 분리되었는데 이 유전자는 copy 수의 증가에 따라 유성분화의 상대적 비율이 크게 증가하는 양상을 보였다(Chae *et al.*, 1995). 그러나 이들 유전자들이

유성분화를 유도할 수도 있지만 조건에 따라 무성분화를 억제하는 기능을 가졌을 가능성도 배제할 수는 없다. 이들 유전자와 유사한 기능을 보이는 유전자가 *veA* 유전자이다. *veA1* 돌연변이는 Käfer(1965)에 의해 분리 동정된 것으로서, 야생형의 경우 *nonsporogenous hyphae*가 상당히 많이 발생하는데 반해 이 돌연변이는 이것이 거의 나타나지 않는 형질로, 야생형보다 훨씬 많은 *conidia*를 생성하며 *colony*가 보다 평평한 특징을 지니고 있다. 이러한 장점으로 인하여 *veA* 돌연변이는 지금까지 유전학적 분석을 위해 주로 사용되어 왔으며, 일반적으로 그 유전자형을 표시하지 않았다. Champe *et al* (1981)은 *veA* 유전자가 단순히 형태적 차이를 보이는 것만은 아니고, 유성분화 및 무성분화의 시기나 그 양에서 차이가 나며, 이 형질은 온도에 민감함을 발견하였다. 그는 *veA*⁺와 *veA*⁻ 균주 사이에 총 단백질의 차이를 SDS-PAGE를 통하여 분석한 결과 분자량 36,000의 protein이 *veA*⁻ 균주에서는 만들어지지 않는다는 사실을 발견하였으며 아마도 이것이 *veA* 유전자가 coding 하고 있는 단백질일 것으로 추측하고 있다. 최근에 *veA*⁺ 균주에 적색광을 조사하였을 때 무성포자가 다량 유도되고 이는 적외선 근처의 적색광에 의해 *reversion* 되는 현상이 보고되었다(Mooney and Yager, 1990). 그러나 *veA* 유전자가 빛에 의존하여 무성분화를 조절하는 기능은 yeast extract가 있는 배지에서만 그 효과가 뚜렷이 보이기 때문에 분화에 대한 빛의 효과에 대해서는 논란의 여지가 있다(Han, unpublished data). *veA*⁺와 *veA*⁻ 균주 사이에서 분화 양상의 차이는 탄소원의 종류에 따라 극명하게 나타난다. 약 12시간 정도 lag를 보이는 탄소원중 acetate를 제외하고는 *veA*⁺에서 무성분화보다는 유성분화로 진행된 반면 *veA*⁻ 균주에서는 무성분화만이 진행된다. 또한 정단성장은 정상이지만 균사분지가 감소되어 균사체의 밀도가 떨어진 돌연변이 (NPG: Han and Han, 1993)를 지니는 *veA*⁺는 유성분화만 일어난 반면 *veA*⁻ 균주는 정상적으로 무성분화를 진행하였다(Han and Han 1994). 이러한 결과는 *veA* 유전자가 균사체가 적정 밀도에 이를 때까지 무성분화를 억제하는 기능을 가지고 있음을 시사해준다.

결 론

현대생물학 분야에서 풀어야 할 중요한 과제 중의 하나가 분화에 관한 명확한 해석이다. 지금까지의 분화에 대한 연구는 주로 형태변화에 초점이 맞추어진 것이 대부분이었고 이를 기능적으로 설명할 만한 연구 결과는 많지 않은 실정이었다. 특히 분화라는 생명현상은 간단하게 설명될 수 있는 것이 아니고 여러가지 현상이 복합적으로 일어나고 아주 정밀하게 조절되는 과정이기 때문에 쉽사리 접근하기가 어려운 분야라 판단된다. 다행히 최근에 분자생물학적 기교가 많이 발달한 데 힘입어 비교적 하등한 생물체에서 형태변화를 분자수준에서 설명할 수 있는 수준에 이르렀다. 분화과정은 형태변화를 이루는데 관여하는 유전자들이 끊임없이 발현되거나 혹은 억제되거나하는 유전정보 발현의 조절과정의 연속이라고 판단된다. 이같은 조절은 개체내부의 요인에 의해 지배되거나, 또는 개체외적인 환경요인에 의해 지배가 되리라 생각된다. 곰팡이에서는 분화에 영향을 미치는 요인을 쉽게 조작할 수 있는 잇점이 있기 때문에 분화과정의 연구 대상으로 많이 이용되어 왔다. 이러한 관점에서 볼 때 *A. nidulans*의 분화과정에서의 유전적 조절 기작은 흥미있는 분야이다. 더욱이 서로 경쟁적인 관계이며 서로 다른 목적으로 분화하는 것으로 보이는 무성포자와 유성포자의 형성에 있어서 선택의 조건과 이 과정에서의 유전적인 조절 기작은 *A. nidulans*만이 가지는 특징으로 각 분화과정의 조절기작과 아울러 많은 흥미를 유발하는 분야이다. 따라서 *A. nidulans* 분화과정에 관여하는 유전자들이 더 많이 분리 분석되고 이들에 대한 생리 생화학적 분석이 이루어지면 곰팡이 뿐만 아니라 다른 고등 생물의 분화 체계를 설명하는데도 도움이 되리라 사료된다.

參考文獻

Adams, T.H., Boylan, M.T. and Timberlake, W.E. 1988. *Cell* 54: 353-362.

- Andrianopoulos, A. and W.E. Timberlake. 1994. *Mol. Cell. Biol.* **14**: 2503-2515.
- Aramayo, R. and W.E. Timberlake. 1990. *Nuc. Acids Res.* **18**: 3415-
- Aramayo, R. and W.E. Timberlake. 1993. *EMBO J.* **12**: 2039-2048.
- Arlett, C.F. 1960. *Heredity* **15**: 377-388.
- Axelrod, D.E., Gealt, M. and Pastushok, M. 1973. *Develop. Biol.* **34**: 9-15.
- Bainbridge, B.W., Bull, A.T., Pirt, S.J., Rowley, B.I. and Trinci, P.J. 1971. *Trans. British Mycol. Soc.* **56**: 371-385.
- Benjamin, C.R. 1955. *Mycologia* **47**: 669-687.
- Boylan, M.T., Mirabito, P.M., Willett, C.E., Zimmermann, C.R. and Timberlake, W.E. 1987. *Mol. Cell. Biol.* **7**: 3113-3118.
- Butnick, N.Z., Yager, L.N., Hermann, T.E., Kurtz, M.B. and Champe, S.P. 1984a. *J. Bacteriol.* **160**: 541-545.
- Butnick, N.Z., Yager, L.N., Hermann, T.E., Kurtz, M.B. and Champe, S.P. 1984b. *J. Bacteriol.* **160**: 546-551.
- Champe, S.P., Kurtz, M.B., Yager, L.N., Butnick, N.J. and Axelrod, D.E. 1981, In *The Fungal Spores: Morphogenic Controls*. H.R. Hohl and G. Turian eds., Academic Press, New York, pp. 255-276 .
- Champe, S.P., Rao, P. and Chang, A. 1987. *J. Gen. Microbiol.* **133**: 1383-1387.
- Champe, S.P. and El-Zayat, A.E. 1989. *J. Bacteriol.* **171**: 3982-3988
- Champe, S.P. and L.D. Simon 1992. *Morphogenesis: An analysis of the development of biological form* (ed. E.F. Rosomando and S. Alexander), pp 63-91. Marcel Dekker, New York.
- Clutterbuck, A.J. 1969. *Genetics* **63**: 317-327.
- Clutterbuck, A.J. 1972. *J. Gen. Microbiol.* **70**: 423-435.
- Clutterbuck, A.J., 1974. in *Handbook of Genetics*. vol. I., R.C. King ed., Plenum Publishing Co., New York, pp. 447-510.
- Clutterbuck, A.J. 1977. in *Genetics and Physiology of Aspergillus*. J.E. Smith and J.A. Pateman eds., Academic Press, London, pp. 305-317.
- Clutterbuck, A.J. 1994. *Microbiology (GB)* **140**: 1169-1174.
- Ellis, T.T., Reynolds, D.R. and Alexopoulos, C.J. 1973. *Mycologia* **65**: 1028-1035.
- Fischer, R. and W.E. Timberlake. 1995. *J. Cell Biol.* **128**: 485-498.
- Fortuin, J.J.H. 1971. *Mutation Res.* **11**: 149-162.
- Han, D.M., Han, Y.J., Lee, Jahng, K.-Y., Jang, S.H. and Chae, K.S. 1990. *Kor. J. Mycol.* **18**: 225-232.
- Han, D.M., Han, Y.J., Kim, J.H., Jahng, K.-Y., Chung, Y.S., Chung, J.H. and Chae, K.S. 1994. *Kor. J. Mycol.* **22**: 1-7.
- Han, Y.J. and D.M. Han. 1993. *Kor. J. Genet.* **15**: 1-10.
- Han, D.M. and Y.J. Han. 1994. *Kor. J. Genet.* **16**: 323-332.
- Kafer, E. 1965. *Genetics* **52**: 217-232.
- Kirk, K.E. and N.R. Morris. 1991. *Genes and Devel.* **5**: 2014-2023.
- Landschulz, W.H., Johnson, P.F. and McKnight, S.L. 1988. *Science* **240**: 1759-1764.
- Lee, B.N. and T.H. Adams. 1994. *Genes and Devel.* **8**: 641-651.
- Losick, R. and L. Shapiro. 1993. *Science (Wash. D.C.)* **262**: 1227-1228.
- Martinelli, S.D. and Clutterbuck, A.J. 1971. *J. Gen. Microbiol.* **69**: 2261-2268.
- Miller, K.Y., T.M. Toennis, T.H. Adams and B.L. Miller. 1991. *Mol. Gen. Genet.* **227**: 285-292.
- Miller, K.Y., J.Wu and B.L. Miller. 1992. *Genes and Devel.* **6**: 1770-1782.
- Mirabito, P.M., Adams, T.H. and Timberlake, W.E. 1989. *Cell* **57**: 859-868.
- Mooney, J.L. and L.N. Yager. 1990. *Genes and Devel.* **4**: 1473-1482.
- O'Hara, E.B. and Timberlake, W.E. 1989. *Genetics* **129**: 249-254.
- Oliver, P.T.P. 1972. *J. Gen. Microbiol.* **73**: 45-54.

- Pontecorvo, G. 1953. *Adv. Genet.* **5**: 142-238.
- Smith, J.E., Anderson, J.G., Deans, S.G. and Davis, B. 1977. In *Genetics and Physiology of Aspergillus*. J.E. Smith and J.A. Pateman eds., Academic Press, London, pp.23-58.
- Stringer, M.A. and W.E. Timberlake. 1994. *dewA* encodes a fungal hydrophobin component of the *Aspergillus* spore wall. *Mol. Microbiol.* (in press).
- Thom, C. and Raper, K.B. 1945. *A Manual of the Aspergillus*. Williams and Wilkins Co., Baltimore, U.S.A.
- Timberlake, W.E. 1980. *Develop. Biol.* **78**: 497-510.
- Timberlake, W.E. and Marshall, M.M. 1988. *Trends Genet.* **4**: 162-169.
- Timberlake, W.E. 1990. *Ann. Rev. Genet.* **24**: 5-36.
- Yelton, M.M., J.E. Hammer and W.E. Timberlake. 1984. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 1470-1474.
- Zonnevelt, B.J.M. 1977. In *Genetics and Physiology of Aspergillus*. J.E. Smith and J.A. Pateman eds., Academic Press, London, pp.59-80.