

Control of flowering time in *Arabidopsis*: a Rosetta stone?

안지훈

고려대학교 생명과학대학

일반적으로 식물의 발달 및 기관 분화는 동물과 확연한 차이를 보인다. 동물의 경우 많은 발달 과정이 초기 배아상태 (early embryo stage)에서 완결되는데 비해서 식물은 전 생활사를 걸쳐 각 기관들의 발달이 이루어진다¹⁻³. 예를 들어 식물의 초기 배아 형성 이후에 발달하는 종자를 보면 자엽 (cotyledon)과 유근 (radicle) 등 아주 기본적인 조직만 가지고 있지만, 성숙한 식물체로 갈수록 모용 (trichome), 꽃과 같은 새로운 기관들이 발달하기 시작한다^{4,5}. 따라서 식물체는 각 발달시기에 따른 특정한 기관의 분화를 연구하기에 아주 좋은 재료이다.

애기장대 (*Arabidopsis thaliana*)는 현대 식물 분자생물학에서 가장 널리 사용되는 모델 식물이며 일년생 초본 식물로서 꽃의 발달 측면에서 보면 임의적 장일식물이다⁶. 즉 애기장대는 낮의 길이가 길어지면 개화시기가 점점 빨라지고 반대로 낮의 길이가 줄어들면 개화가 차츰 지연된다. 이러한 점은 여름을 지나 가을로 가면서 낮의 길이가 짧아지면서 개화하는 벼나 국화와 같은 단일식물과 비교되는 장일식물만의 특징이다⁷.

애기장대는 일정기간의 영양 생장기를 거치고 난 후에 생식 생장기로 전이되며 종자생산과 더불어 생활사를 종료하게 되는데, 이 두 시기 사이에 나타나는 것이 꽃의 발달 (flower development)이다. 애기장대는 꽃의 발달을 통해서만 영양 생장기에서 생식 생장기로 전이 되기 때문에, 이 개화 현상은 애기장대의 발달단계에서의 상전이 (phase transition)의 지표가 된다⁶.

애기장대에서 꽃의 발달은 크게 3가지의 단계로 구분할 수 있다. 첫번째는 개화 유도 (floral induction)이다. 외부 환경적 요인이나 내재적 신호를 받아들여 아직은 그 정체를 정확하게 모르는 어떤 신호가 형성되고 이 신호에 의해 일단의 유전자들이 발현된다. 이 단계에 관여하는 유전자들을 흔히 개화시기 조절 유전자 (flowering time gene)라고 부른다⁸. 두 번째 단계는 분열조직 정체성을 결정하는 단계 (floral identity)이다. 일단 개화신호가 만들어지고 이에 따라 생식 생장기로의 상전이가 이루어지게 되면 정단분열조직은 차후에 새로이 만들어지는 분열조직이 꽃으로 발달할지 잎으로 발달할지를 결정하는 과정을 거친다. 이 과정에 관여하는 유전자에는 분열조직 정체성 결정 유전자인 *LFY*가 있다⁹. 세번째는 꽃의 각 기관을 형성하는 단계 (floral patterning)로서 이 과정에는 *API*나 *AG* 같은 homeotic 유전자들이 관여한다¹⁰⁻¹². 흥미롭게도 꽃의 각 기관을 형성하는데 관여하는 유전자들은 대부분 MADS box라고 하는 DNA 결합 모티브를 가지고 있는 전사 조절인자를 암호화하는 유전자들이다^{13,14}.

고등식물에서 꽃 발달에 관한 연구 경향은 시기별로 크게 두 가지로 나누어 볼 수 있다. 90년대 초반에는 주로 애기장대의 꽃 형태형성 (floral patterning)에 대해 많은 연구가 이루어졌다. 그 결과 꽃의 형태형성의 근간을 이루는 ABC 모델로 대표되는 기작이 밝혀지고, 고등식물에서 꽃의 발달, 특히 꽃의 기관형성에 대한 많은 지식을 축적할 수 있었다^{15,16}. 이 모델은 비교적 계통학적 유연관계가 먼 옥수수와 같은 단자엽 식물에도 큰 변형없이 적용 가능한 것으로 알려져 있다. 이 사실은 진화적으로 유연관계가 먼 종사이에서도 꽃의 형태형성 기작은 잘 보존되어 있음을 시사한다^{17,18}. 그러나 최근에 고등식물에서 어떻게 개화시기

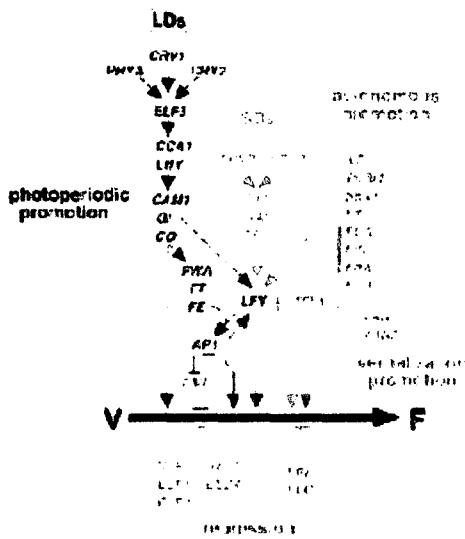


그림 1 Genetic pathways that control flowering time in *Arabidopsis* and proposed interactions among some of the genes involved. The horizontal line symbolizes the vegetative (V) to floral (F) transition, with the promotive and repressive pathways exerting their influence on this switch.

는 주로 단일 조건에서만 영향을 받는 것이 특징이다. 마지막으로 세번째 경로는 자발적 경로 (autonomous pathway)로서 여기에 관여하는 유전자의 돌연변이체들은 장일 조건이나 단일 조건에 모두 개화시기가 영향을 받으며 *FCA*, *FVE*, *LD (LUMINIDEPENDENS)*와 같은 유전자들이 이 경로에 관여하고 있다^{23,27,28}. 일부 학자들은 춘화 경로 (vernalization pathway)를 자발적 경로에서 따로 분리하여 독립적인 경로로 여기기도 하여 4개의 경로로 해석하기도 한다. 여기에 관여하는 유전자는 *FRI (FRIGIDA)*, *FLC (=FLF, FLOWERING LOCUS C)*, *VRN (VERNALIZATION)* 등이 있다²⁹⁻³¹.

이들 세가지 경로중에서 애기장대의 개화시기 조절은 광주기에 의한 것, 특히 장일 경로에 의해 주로 조절되고 있다. 이 경로에 관여하는 유전자들로는 광수용체인 피토크롬과 크립토크롬을 암호화하는 유전자들과 *GI (GIGANTEA)*, *CO (CONSTANS)*, *FT (FLOWERING LOCUS T)*, *FWA*와, *SOC1 (SUPPRESSOR OF CO OVEREXPRESSION 1 = AGL20)* 등이 알려져 있으며 위에 열거한 유전자들은 모두 클로닝되어 이들의 개화시기 조절에 미치는 유전학적 작용 경로가 대체적으로 규명되었다 (Figure 1)^{25,32-35}. 장일 경로에서는 광주기의 변화가 광수용체에 의해 감지되고 난 후 생체시계 유전자와 *GI*를 거쳐 *CO*로 전달되면 궁극적으로는 정단 분열조직 정체성을 결정하는 유전자인 *LFY*로 이어지는 신호 전달 경로를 보인다.

현재 이 장의 경로에서 특히 중추적 역할을 하는 CO를 중심으로 많은 연구가 진행되고 있다. CO는 C2H2 타입의 아연 손가락 (zinc finger) DNA 결합 단백질을 암호화하는 유전자로서 이 유전자는 광수용체와 생체시계에 의해서 인지되는 빛의 양, 질, 길이의 신호를 이어 받아 하위단계의 유전자에 전달하는 중요한 역할을 한다²⁵(S.A. Kay, unpublished). CO 자

가 조절 (control of flowering time)되는지에 많은 관심이 모아지면서 꽃의 형태 형성보다는 개화시기 조절분야가 식물 분자생물학 연구의 매우 관심있는 분야중의 하나가 되었다¹⁹⁻²¹.

여러가지 유전학적, 분자생물학적 접근 방법을 통하여 애기장대의 개화시기 조절에는 크게 3-4 가지의 서로 다른 경로가 존재함이 밝혀졌다 (Figure 1)^{22,23}. 첫번째는 장일 경로라고 불리우는 경로 (long day pathway)로서 이는 주로 장일 조건에서 애기장대의 개화를 촉진하며 피토크롬 (phytochrome)이나 크립토크롬 (cryptochrome)과 같은 광수용체와 *CO* (*CONSTANS*)와 같은 전사 조절인자 (transcription factor)가 관여한다^{24,25}. 이들 유전자의 돌연변이체들의 개화시기는 장일 조건에서만 영향을 받고 단일 조건에서의 개화시기는 거의 영향이 없는 것으로 알려져 있다²¹. 두번째 경로는 주로 단일 조건에서 영향을 미치는 경로이며 여기에는 식물호르몬의 일종인 GA (gibberellic acid)가 필수적인 역할을 하며, 이 경로에는 *GAI*이나 *GAI*, *RGA*등의 유전자들이 관여하고 있다²⁶. 이 돌연변이체들의 개화시기

체의 mRNA 양은 생체시계에 의해 조절받아서 밤에 높게 나타나며, 낮에는 거의 나타나지 않는다. 그러나 발현되는 단백질의 양은 이와는 반대로 낮에 많이 나타나는데 이것은 생체시계에 의해 조절되는 유전자 발현과 외부환경과의 밀접한 상호작용이 있음을 암시한다.

장일 경로에서 중요한 역할을 하는 유전자들을 찾기 위한 노력의 결과로 개화신호 전달에 관여하는 여러 유전자들이 밝혀졌다. John Innes Center의 G. Coupland 박사 연구팀 (현 Max-Planck Institute)은 *CO* 유전자와 쥐의 글루터코르티코이드 수용체를 결합시킨 융합단백질을 사용하여 *CO* 활성화 이후에 발현이 유도되는 유전자 분리실험을 수행한 결과 *CO*의 하위단계에 작용하는 유전자중의 일부는 *LFY*와 *FT* 유전자인 것을 밝혀냈다^{34,36,37}. *LFY* 유전자의 경우에는 *CO* 활성화 이후에 24시간이내에, *FT* 유전자의 경우에는 12시간이내에 그들의 발현양이 증가하는 것으로 보아 *CO*의 신호가 *FT*에 먼저 도달하고 나중에 *LFY*에 전달 된다는 것을 추측케 한다.

*LFY*는 분열조직의 정체성을 결정하는 유전자로서 새로운 형태의 전사 조절인자를 암호화하고 있다. *LFY* 유전자에 돌연변이가 생기면 영양 생장기에서 생식 생장기로 정상적인 전이가 되지 않고 계속 영양 생장기관들만 생산하는 표현형이 나오게 된다. 유전학적 연구결과에 의하면 이 *LFY* 유전자는 꽃의 기관 형태형성에 관여하는 ABC 기능 유전자들의 상위에 직접적으로 작용하는 것으로 보고되었고, 특히 분자적으로 A 기능과 C 기능 유전자인 *AP1*과 *AG*의 특정한 염기서열에 특이적으로 결합하여 이들 유전자의 발현을 조절하는 것이 밝혀졌다^{38,39}.

*FT*는 PEBP (phosphoethanolamine binding protein)와 사람의 Raf kinase inhibitor와 유사성을 보이는 유전자로 개화시기 조절에 관여하며 이 유전자가 활성화되었을때는 개화를 촉진한다. 그러나 아직 이 유전자가 어떤 기능을 수행하고 있는지 구체적인 정보는 밝혀지지 않았다. 한가지 흥미로운 사실은 이 유전자가 개화를 억제하는 *TFL1*과 같은 gene family에 있다는 점이다. 즉, 같은 gene family에 속하는 유전자중의 하나는 개화를 촉진하고 다른 하나는 개화를 억제한다. 이들 상호간에 어떤 조절 기작이 존재하는지는 정확하게 알려져 있지 않지만 두 유전자 산물의 상대적인 양의 차이가 개화 시기를 결정하는데 중요한 것으로 보인다(D. Weigel, unpublished).

*CO*의 신호전달에서 하위 단계의 유전자 분리는 *CO* 유전자 과량 발현체가 보이는 조기 개화를 억제할 수 있는 유전자를 찾는 접근 방법을 사용하여 수행되었다⁴⁰. 이 방법을 통하여 기존에 알려진 *FT*이외에 *SOC1* (*Suppressor of CO overexpressor 1*), *ACS10*, *AtP5CS2*등의 유전자가 새롭게 분리되었다. 특히 이들 가운데 *SOC1*은 *FT*와 평행으로 작용하여 *CO*의 하위에서 신호전달을 하는 것으로 여겨진다. 이 *SOC1* (=AGL20) 유전자는 같은 시기에 국내 이일하 교수 연구팀에 의해서도 분리 보고되었는데, 이일하 교수 연구팀은 *FRI*, *FLC* 양쪽 유전자의 우성 식물체가 보이는 만기 개화를 억제할 수 있는 유전자를 찾기 위한 활성화 표지 선별방법을 통하여 이 *SOC1* 유전자를 분리한 바 있다³⁵. 매우 흥미로운 사실은 *FT*는 비교적 장일 조건에서만 그 효과를 발휘하는 것으로 보이나, *SOC1*은 광주기 의존적 경로이외에도 자발적 경로에도 관여하여 여러 개화신호의 통합에 작용하는 것으로 보인다는 것이다^{35,41}. 현재까지 결과로는 *CO*까지 신호전달은 비교적 단일한 경로를 따라 내려오는 것으로 보이지만 *CO*의 하위단계에서는 두 개 이상의 갈래로 갈라지는 것으로 보인다.

2000년 말에 애기장대의 전체 게놈 염기서열 정보가 알려지면서, 포스트 게놈 시대에 들입하였고 현재 식물 분자 유전학의 관심사는 그 유전자의 기능이 무엇인가에 쏠리고 있다. 따



그림 2 Overexpression of *LEAFY* in citrus transgenic plants. (A) Transgenic shoot grafted in vitro on a nontransgenic rootstock showing a precocious terminal flower five weeks after regeneration. (B) Ripened fruit from a transgenic in the greenhouse.

라서 세계 각국의 연구기관들이 유전자 기능 분석에 관한 연구에 많은 투자를 하고 있다. 특히 미국 NSF가 2010 프로젝트라고 하는 연구과제에 천문학적인 연구비를 투자하여 식물 분야에서 최초의 기능 유전체학적 연구 결과를 선점하기 위해 노력하고 있는 것도 같은 맥락에서 해석할 수 있다⁴³.

애기장대는 식용식물도 아니며 사람에게 어떤 유용성이 있는 것이 아닌 단순한 잡초에 불과하지만 애기장대에서 얻어진 유전자 기능에 대한 연구 결과는 다른 작물에도 쉽게 적용 가능하다는 점에서 애기장대에서의 연구는 매우 중요하다. 예를 들어 애기장대에서 찾은 유전자와 상동성을 가진 유전자를 해당 작물에서 찾은 후에 이를 과량 발현시켰을 때 표현형이 애기장대에서 보았던 것처럼 변하는 것은 물론이며, 애기장대 유전자 그 자체를 다른 작물에 도입시켜 과량 발현 시켰을 때에도 마찬가지의 결과를 얻을 수 있다^{44,45}. 실제로 초본 식물인 애기장대에서 개화시기를 조절할 수 있는

LFY 유전자나 *API* 유전자를 목본 식물인 귤나무에 도입하였을 때 귤나무에서도 조기 개화를 유도할 수 있을 뿐만 아니라 정상적인 과실도 얻을 수 있었다(Figure 2)⁴⁶. 이런 사실은 가장 많은 연구결과가 축적되어 있는 애기장대에서 얻어진 연구결과를 곧바로 다른 식물체에 적용할 수 있다는 것을 보여주는 점에서 매우 중요한 의미를 갖는다.

이러한 결과로 미루어 볼 때 고등식물의 개화시기 조절 기작은 몇몇 예외를 제외하고 상당 부분이 보존되어 있는 것으로 보인다. 실제로 애기장대의 유전자를 비교적 근연관계가 먼 식물체에 도입했을 때에도 애기장대에서 보았던 표현형이 나타나는 것이 이런 사실을 입증하고 있다. 따라서 애기장대는 비록 유용한 작물은 아니지만 애기장대의 개화시기 연구에서 얻어진 결과는 다른 작물의 개화시기를 조절 기작을 이해하는데 중요한 정보를 제공할 것이며 고대 이집트 상형 문자를 해석하는데 결정적인 역할을 했던 Rosetta stone의 역할을 해줄 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Pfeffer, P. L., Payer, B., Reim, G., di Magliano, M. P. & Busslinger, M. The activation and maintenance of Pax2 expression at the mid-hindbrain boundary is controlled by separate enhancers. *Development* 129, 307-18 (2002).
2. Steinbach, O. C., Wolffe, A. P. & Rupp, R. A. Somatic linker histones cause loss of mesodermal competence in *Xenopus*. *Nature* 389, 395-9 (1997).
3. Mills, A. A. et al. p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis. *Nature* 398, 708-13 (1999).
4. Melzer, S., Kampmann, G., Chandler, J. & Apel, K. FPF1 modulates the competence to flowering in *Arabidopsis*. *Plant J* 18, 395-405 (1999).
5. Telfer, A. & Poethig, R. S. HASTY: a gene that regulates the timing of shoot maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 125, 1889-98 (1998).
6. Meinke, D. W., Cherry, J. M., Dean, C., Rounsley, S. D. & Koornneef, M. *Arabidopsis*

- thaliana: a model plant for genome analysis. *Science* 282, 662, 679–82 (1998).
7. Musgrave, M. E., Kuang, A. & Matthews, S. W. Plant reproduction during spaceflight: importance of the gaseous environment. *Planta* 203, S177–84 (1997).
 8. Samach, A. & Coupland, G. Time measurement and the control of flowering in plants. *Bioessays* 22, 38–47 (2000).
 9. Weigel, D., Alvarez, J., Smyth, D. R., Yanofsky, M. F. & Meyerowitz, E. M. LEAFY controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Cell* 69, 843–59 (1992).
 10. Bowman, J. L., Drews, G. N. & Meyerowitz, E. M. Expression of the *Arabidopsis* floral homeotic gene AGAMOUS is restricted to specific cell types late in flower development. *Plant Cell* 3, 749–58 (1991).
 11. Mandel, M. A. & Yanofsky, M. F. A gene triggering flower formation in *Arabidopsis* [see comments]. *Nature* 377, 522–4 (1995).
 12. Wagner, D., Sablowski, R. W. & Meyerowitz, E. M. Transcriptional activation of APETALA1 by LEAFY. *Science* 285, 582–4 (1999).
 13. Ng, M. & Yanofsky, M. F. Function and evolution of the plant MADS-box gene family. *Nat Rev Genet* 2, 186–95 (2001).
 14. Theissen, G. et al. A short history of MADS-box genes in plants. *Plant Mol Biol* 42, 115–49 (2000).
 15. Weigel, D. & Meyerowitz, E. M. The ABCs of floral homeotic genes. *Cell* 78, 203–9 (1994).
 16. Okada, K. & Shimura, Y. Genetic analyses of signalling in flower development using *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* 26, 1357–77 (1994).
 17. Mena, M. et al. Diversification of C-function activity in maize flower development. *Science* 274, 1537–40 (1996).
 18. Schmidt, R. J. et al. Identification and molecular characterization of ZAG1, the maize homolog of the *Arabidopsis* floral homeotic gene AGAMOUS. *Plant Cell* 5, 729–37 (1993).
 19. Coupland, G. Regulation of flowering time: *Arabidopsis* as a model system to study genes that promote or delay flowering. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 350, 27–34 (1995).
 20. Coupland, G. et al. The regulation of flowering time by daylength in *Arabidopsis*. *Symp Soc Exp Biol* 51, 105–10 (1998).
 21. Koornneef, M. Plant development: timing when to flower. *Curr Biol* 7, R651–2 (1997).
 22. Simpson, G. G., Gendall, A. R. & Dean, C. When to switch to flowering. *Annu Rev Cell Dev Biol* 15, 519–50 (1999).
 23. Page, T., Macknight, R., Yang, C. H. & Dean, C. Genetic interactions of the *Arabidopsis* flowering time gene FCA, with genes regulating floral initiation. *Plant J* 17, 231–9 (1999).
 24. Lin, C. Photoreceptors and regulation of flowering time. *Plant Physiol* 123, 39–50 (2000).
 25. Putterill, J., Robson, F., Lee, K., Simon, R. & Coupland, G. The CONSTANS gene of

- Arabidopsis promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell* 80, 847–57 (1995).
26. Meyerowitz, E. M. et al. A genetic and molecular model for flower development in *Arabidopsis thaliana*. *Dev Suppl* 1, 157–67 (1991).
 27. Aukerman, M. J., Lee, I., Weigel, D. & Amasino, R. M. The *Arabidopsis* flowering-time gene *LUMINIDEPENDENS* is expressed primarily in regions of cell proliferation and encodes a nuclear protein that regulates *LEAFY* expression. *Plant J* 18, 195–203 (1999).
 28. Lee, I. et al. Isolation of *LUMINIDEPENDENS*: a gene involved in the control of flowering time in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 6, 75–83 (1994).
 29. Michaels, S. D. & Amasino, R. M. Loss of *FLOWERING LOCUS C* activity eliminates the late-flowering phenotype of *FRIGIDA* and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization. *Plant Cell* 13, 935–41 (2001).
 30. Michaels, S. D. & Amasino, R. M. *FLOWERING LOCUS C* encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering [see comments]. *Plant Cell* 11, 949–56 (1999).
 31. Gendall, A. R., Levy, Y. Y., Wilson, A. & Dean, C. The *VERNALIZATION 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. *Cell* 107, 525–35 (2001).
 32. Fowler, S. et al. *GIGANTEA*: a circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis* and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains. *Embo J* 18, 4679–88 (1999).
 33. Kobayashi, Y., Kaya, H., Goto, K., Iwabuchi, M. & Araki, T. A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science* 286, 1960–2 (1999).
 34. Kardailsky, I. et al. Activation tagging of the floral inducer *FT*. *Science* 286, 1962–1965 (1999).
 35. Lee, H. et al. The *AGAMOUS-LIKE 20* MADS domain protein integrates floral inductive pathways in *Arabidopsis*. *Genes Dev* 14, 2366–2376 (2000).
 36. Simon, R., Igano, M. I. & Coupland, G. Activation of floral meristem identity genes in *Arabidopsis*. *Nature* 384, 59–62 (1996).
 37. Weigel, D. & Meyerowitz, E. M. in *Cellular Communications in Plants* (ed. Amasino, R.) 115–122 (Plenum Press, New York, 1993).
 38. Busch, M. A., Bomblies, K. & Weigel, D. Activation of a floral homeotic gene in *Arabidopsis*. *Science* 285, 585–7 (1999).
 39. Parcy, F., Nilsson, O., Busch, M. A., Lee, I. & Weigel, D. A genetic framework for floral patterning. *Nature* 395, 561–566 (1998).
 40. Samach, A. et al. Distinct roles of *CONSTANS* target genes in reproductive development of *Arabidopsis* [see comments]. *Science* 288, 1613–6 (2000).
 41. Borner, R. et al. A MADS domain gene involved in the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Plant J* 24, 591–9 (2000).
 42. Weigel, D. et al. Activation tagging in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 122, 1003–13.

(2000).

43. Chory, J. et al. National Science Foundation-Sponsored Workshop Report: "The 2010 Project" functional genomics and the virtual plant. A blueprint for understanding how plants are built and how to improve them. *Plant Physiol* 123, 423–6. (2000).
44. Weigel, D. & Nilsson, O. A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature* 377, 495–500 (1995).
45. He, Z. et al. Transformation of rice with the *Arabidopsis* floral regulator LEAFY causes early heading. *Transgenic Res.* 9, 223–7 (2000).
46. Pena, L. et al. Constitutive expression of *Arabidopsis* LEAFY or APETALA1 genes in citrus reduces their generation time. *Nat Biotechnol* 19, 263–7. (2001).