

수수 속에서 근경 특이적 발현 유전자들에 대한 비교 유전체 분석

장철성

고려대학교 생명자원연구소

Comparative genomics of sorghum genes with rhizome-enriched expression

Cheol Seong Jang

Institute of Life Science & Natural Resources, Korea University

1. 서언

Johnsongrass [*Sorghum halepense* (L.) Pers, $2N=4X=40$]는 영년생 단자엽 식물로 종자 번식 뿐 아니라 근경 (rhizome)으로 번식이 가능한 문제 잡초이다 (Holm et al., 1977). Johnsongrass는 목초로서 미국 내에 도입을 하였으나 문제 잡초로서 전이 되었다. 미국 남부 지역에서는 이 문제 잡초로 인해 사탕수수와 콩에 수량의 약 45% 정도 감소되고 있다. Johnsongrass를 방제하기 위해서는 제초제가 연간 12-20 달러/아르 정도의 경비가 사용이 되고 있으나 같은 속인 수수의 재배지에서는 제초제에 의한 작물의 피해가 나타나고 있다. 효과적인 방제를 위해서는 수수와 Johnsongrass와의 생리학적 및 형태학적 차이를 규명하는 것이 필요하다. 근경은 수수와 Johnsongrass을 구별하는 중요한 형태학적 특징 중에 하나이다. Johnsongrass의 근경을 갖는 특성과 지리학적인 분포를 고려해 볼 때, *Sorghum bicolor* ($2n=2X=20$)와 *Sorghum propinquum* (Kunth.) Hitchc. ($2n=2X=20$)과의 종간 교잡에 의한 종 (allopolyploid)으로 추측된다.

작물과 유사한 잡초는 작물과 교잡이 가능하므로 유전자의 전이에 대한 위험성을 내포하고 있다. 예를 들어 수수와 Johnsongrass를 구별할 제초제 저항성 유전자들을 형질 전환을 통해 작물에 도입 하여도 자연 교잡에 의한 저항성 유전자가 잡초로 전이될 수 있다 (Paterson et al., 1995). 형질 전환 기법에 의한 제초제 저항성 유전자의 도입은 다소 편리한 방법이나, 종간 교잡으로 인해 쉽게 잡초들이 저항성 유전자를 획득 할 수 있을 것이다.

따라서 주곡 작물에서는 도태되었으나, 잡초에서는 우세한 형질인 근경에 대한 유전학 및 생리학적인 연구는 근경에 의해 번식하는 문제 잡초에 대한 방제 대책을 확립 하는데 필요할 것이다. Paterson 등은 (1995) *S. bicolor* BTx623과 *S. propinquum* (unnamed accession)과의 인위 교잡을 통해서 BC1과 F2 세대를 육성하였으며, 분리세대 분석을 통하여 정밀한 근경 형성에 관여하는 QTL 분석을 하였다. 이 연구에 의하면 근경의 수를 조절하는 특징은 3가지의 QTL 영향에 의해 주로 지배되며 이중 하나의 지역 (*pSB195-SHO68*)이 가장 dominant effect를 가지고 있었으며 다른 두 곳의 위치는 additive effect를 보였다.

근경에 의해서 번식하는 영년생 잡초의 문제를 해결하기 위해 IRRI의 연구팀은 *Oryza* 속에서 근경 형성에 관한 연구를 또한 진행하였다 (Hu et al., 2003). *Oryza longistaminata*는 재배 벼 (*O. sativa*)와 동일한 AA genome이며 근경이 잘 발달되는 종이다. 이 연구에 의하면 *O. longistaminata*에서 근경 형성에 관여하는 유전자는 9:7 의 분리

비를 보이는 것으로 나타나 2개의 우성 유전자가 관여 하는 것으로 추정된다. 이 두 유전자는 각각 3번 염색체의 OSR16과 4번 염색체 RM119와 매우 가까운 곳에 위치하며 두 유전자를 *Rhz2*와 *Rhz3*로 명명하였다. 이 결과를 기존의 수수의 유전자 지도와 비교 분석을 하였는데 그 결과 *Rhz3*는 수수의 LG-D 염색체에 위치하면서 근경 발생, 재생력, 분얼수에 영향을 미치는 유전자 위치와 유사한 위치에 있는 것으로 보고 하였다. *Rhz2*는 염색체 LG-C에 연관된 근경의 수, 길이, 분얼 수와 연관되어 있는 유전자 위치와 유사하게 나타났다. 이와 같은 연구 결과를 살펴 볼 때 벼와 수수에서 근경 발생과 빈도수에 관여되는 유전자는 동일 한 것으로 기대되며, 이러한 양상은 화본과 내에서 하나의 동일한 유전적 시스템으로 조절된다는 가설에 대한 좋은 예가 될 것이다.

이러한 유전자 지도는 단순히 유전 현상을 설명하는데 그치는 것이 아니라 근경 생성에 관여하는 유전자의 분리를 도울 것이며, 이를 통한 유전적 특징 및 근경 생성 기작을 밝힐 수 있을 것이다. 또한 이러한 기작을 억제함으로써 문제 잡초 방제 기술 향상에 기여하게 될 것이다.

2. 근경 특이적 유전자의 분리 및 분석

1) 근경 특이적 발현 유전자 분리

S. halepense (pSH)와 *S. propinquum* (pSP)의 rhizome tip 조직 (RT)에서 유래한 각각의 cDNA library로부터 얻은 18,432 clone들의 macroarray는 세 개의 다른 조직, 즉 근경 tip (RT), 성숙된 근경 절간 (RMI), 지상부위 (AG)를 이용하였다. 상대적인 발현 정도는 normalized unit으로 모든 조직에서 평균값이 1.00이었으며, 범위는 6.33에서 0.40 이었다. 발현 양상을 비교해 볼 때, RT와 RMI가 더 유사한 발현 양상을 보였으며($r=0.51$, 0.61 pSH와 pSP), AG의 값은 RMI에 비해 ($r=0.30$, 0.30) RT와 ($r=0.41$, 0.34) 더욱 가까움을 알 수 있었다. 18,432개의 데이터를 포함하는 상관관계를 볼 때, 모두 매우 높은 유의성을 보여주었다. 이것은 근경에서 발현하는 유전자들이 활발하게 성장하는 조직들에서 발현하는 유전자들과 유사한 경향을 보여준다는 것을 의미한다. RT/RMI 및 RT/AG의 상대적인 발현 양에 기초하여, 각각의 library로부터 192 클론 (약 1%)들을 근경에서 특이적 발현하는 유전자들로 선발 하였다. 대조군으로 약 48개 (약 0.3%)의 최저의 발현 비율을 가지는 유전자들을 선발 하였다. 모든 클론에 대한 염기 서열 분석 후 phred/phrap 프로그램을 이용하여 534개의 unigene set을 구축하였다. 각각의 염기서열들을 구성된 클론들의 발현 양상에 따라 다음의 4가지 그룹으로 분류하였다; high RT/RMI, high RT/AG, low RT/RMI, low RT/AG. 또한 이전의 다른 연구인 differential display (DD) 방법을 통해 얻은 또 다른 근경 특이적인 75개의 유전자들을 분석에 포함하였다.

2) 물리적인 거리의 비교 및 유전적 위치의 예측

근경에 관련된 QTL 형질에 대한 근경 특이적인 유전자들의 대략적인 위치는 다음 연구를 위한 좋은 자료로서 가치가 있을 것으로 기대된다. 609개의 assembly된 유전들 중 455개 (330개의 high RT/RMI and/or RT/AG, 79개의 low RT/RMI and/or RT/AG, 8개의 pSHR과 36개의 pSHR 유래된 clone들)가 벼 pseudomolecules에 유전자좌를 결정할 수 있었다 (그림 1). 근경 특이적인 유전자들의 물리적인 위치는 다소 광범위하게 모든 염색체내에 위치하는 것으로 보였다.

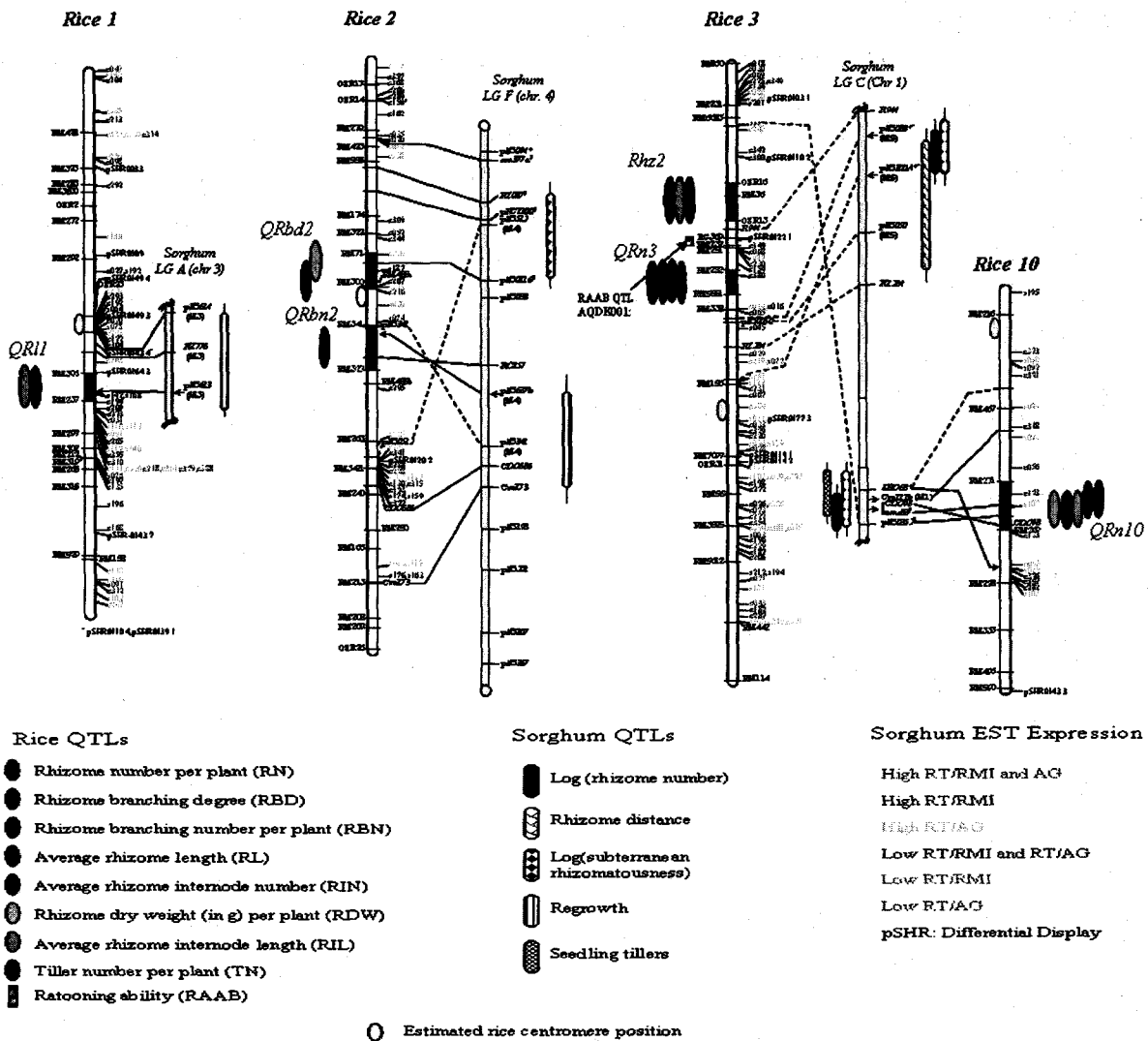


Figure 1. Associations between sorghum and rice rhizomatous and ratooning QTLs and expressed candidate ESTs. maps with QTLs by Hu et al. (2003) are modified according to physical data provided through the TIGR release 2 rice pseudomolecules. Genetic positions of sorghum ESTs were predicted.

21개의 수수의 근경 형질에 관련된 유전자 마커들은 12개의 벼에서 근경 형질에 지배하는 QTL loci 가운데 8개의 지역과 중첩되는 것을 보였다. 또한 11개의 벼 ratooning ability (RAAB) 형질에 관여하는 QTL 가운데 각각 6개 및 4개의 QTL들이 수수와 벼의 근경 특이적인 형질과 중첩되는 것을 발견하였다. 벼 염색체 6번에 위치하는 AQF082 QTL은 수수의 재생력 및 분얼 수 형질 (이곳은 벼 *QRi6*에 상응하는 위치임)과 정확하게 matching되어지는 것을 발견하였다.

단지 3개 (3.7%)의 low ratio 클론들만이 12개의 근경 특징 형질 QTL likelihood intervals에 위치한 반면에 33개 (8.7%)의 high ratio 클론들은 근경 형질에 관여하는 genomic region들에 위치하였다. RAAB QTL들에서는 28 개의 (8.5%) high RT/RMI와 high RT/AG 및 8개의 (17.4%) pSHR 유전자들이 이곳에 포함이 되어져 있었다. 이에 반해 3개의 (3.7%)의 low ratio 클론들이 이 QTL들에 위치하였다.

3) Paleo-homeologs of ancient duplication

화본과에서는 원시 상조 염색체간 duplication은 약 7천만년 전에 발생을 한 것으로 예측되고 있다 (Paterson et al., 2004). 이에 rice 원시sytenic duplication blocks들과 벼 염색체에 존재하는 근경 형성 QTL들과 alignment들을 실시하였다 (그림2).

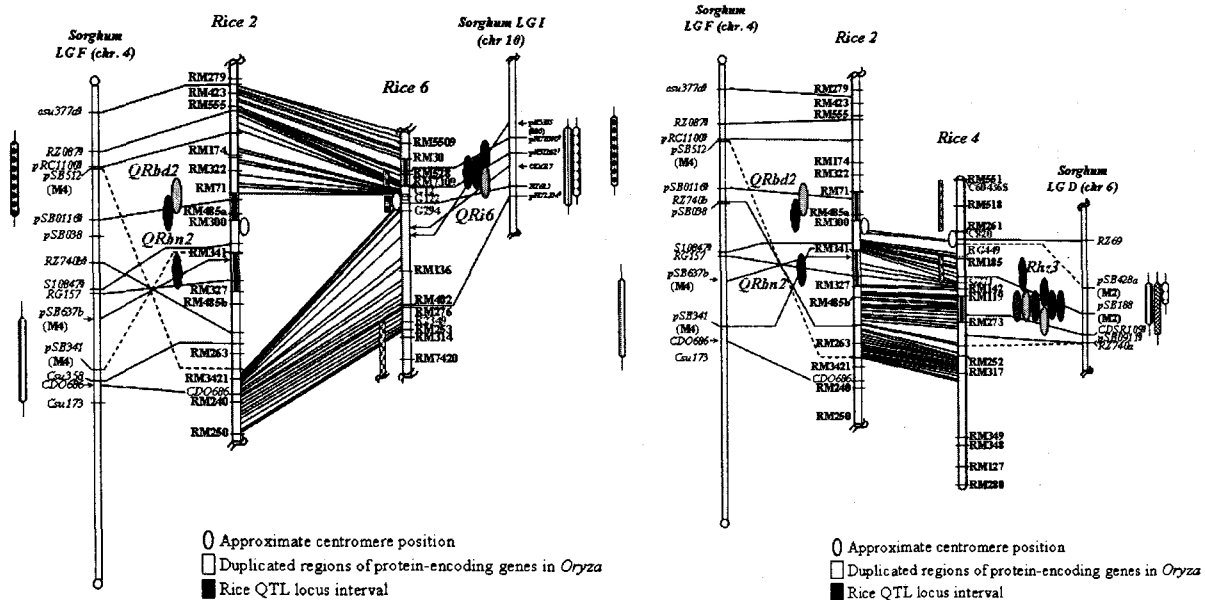


Figure 2. Ancient functional correspondence between rice paleo-homoeologous regions associated with rhizomatousness ratoonng QTL traits and their paralleling sorghum QTLs. Duplicated rice chromosome regions were identified by synteny of protein-encoding genes reported by Paterson et al. (2004). Data for loci used to illustrate syntenic duplication is available in table 8 (see supplementary data). For marker genetic positions, see Materials and Methods or Fig. 2.

벼 염색체 2번의 말단 부위들은 6번 염색체의 중앙 지역과 duplication 관계에 있었다. 수수 유전자지도에서 유추된 마커들을 비교해 볼 때 벼의 2번 6번 염색체 duplication과 이에 상응하는 수수 LG-F (chr. 4)와 LG-I (chr. 10)의 duplication의 발견되었다. 수수 LG-I (chr. 10)와 근경 형성 및 재생력 QTL들은 LG-F 상의 근경 형성 QTL interval에 상응 하는 QRi6 와 RAAB AQF082 위치와 일치하였다. 수수 LG-I (chr. 10) 상의 근경 형성과 재생력 QTL interval들은 벼 염색체 6 RAAB CQE43 위치와 수수 LG-F (chr. 4) 상에 존재하는 재생력 형질에 관련된 interval 들을 포함하는 ancient duplication에 관한 증거를 보여주었다.

벼 염색체 2번의 말단 부위는 6번 염색체와의 syntenic duplication을 보이는 반면 2번의 중앙 부위는 4번 염색체와 커다란 duplication block 관계를 보여준다. 2번 4번 염색체 간에 syntenic blocks의 ancient duplication은 수수 LG-D (chr. 6)와 LG-F (chr. 4)간에 대응이 되어질 뿐 아니라 식물 당 근 경수에 영향을 주는 QRbn2 에 위치하는 벼의 RAAB locus (AQDK002)와도 직접적으로 연관되어 졌다.

흥미롭게도 이 RAAB QTL의 마커들의 두 번째 best BLASTn hit의 결과는 벼 2번 염색체의 RM300과 RM 327 사이 지역에 위치하였다. 두 번째 마커들에 의해 밝혀진 duplication은 부분적으로 QRbn2 뿐만 아니라 수수 LG-F (chr. 4)의 재생력 QTL과 중복됨을 보여주었다. QRbn2 locus는 수수 염색체 4번 (LG-F) QTL과 일치함을 보였다.

4) 근경 특이적 유전자들의 기능적 분류

*S. halepense*과 *S. propinquum*의 근경 조직으로부터 만들어진 cDNA library들에서 얻어진 2616 sequence contig들을 Comparative Grass Genomics Center (CGGC; ftp://cggc.agtec.uga.edu/SorghumUnigene/fastq_file/)으로부터 download하였다. 이는 RT/RMI 및 RT/AG의 비교 간에 선발된 유전자들이 기능 분류를 위한 비교 대상으로 이용을 하였다. 식물 단백질 데이터베이스나 embryophyta 데이터베이스와 유의성을 보이는 모든 염기서열들은 그들의 가상적인 생화학적 및 생리화학적 역할에 기초하여 15가지로 분류하였다. 발현 양상에 따라 분류한 모든 그룹들 간에 unknown function이 가장 많은 분포를 보였다. RT/AG에서 높은 발현을 보여주는 그룹에서는 2차대사 및 호르몬 대사에 포함되는 유전자들이 높은 빈도를 보여주었다. 또한 RT/RMI에서 높은 발현을 보이는 그룹에서는 무생물적 스트레스에 의한 자극과 식물발달에 포함되는 유전자들이 다른 그룹과 비교해 보았을 때 높은 빈도를 나타내었다.

5) 가상적인 cis-acting regulatory element들의 비교

RT에서 상대적으로 높게 혹은 낮게 발현하는 유전자들 간에 cis-acting regulatory element들을 비교하기 위하여 근경 특이적 유전자들에 대한 TIGR (version 2) rice pseudomolecules에서 ortholog들의 가상적인 promoter 부위를 분리하였다 (ATG translation start site로부터 1 kb upstream). 395개의 가상적인 upstream 지역을 분리하였으며 그에 대한 분류는 다음과 같다. 153 high RT/RMI, 148 high RT/AG, 39 pSHR, 24 low RT/RMI, 및 31 low RT/AG. Cis-acting regulatory elements들은 PLACE 데이터베이스를 이용하여 분석하였다. 395개의 1kb upstream sequence들로부터 약 70,985개의 cis-acting regulatory elements들은 발견하였다 (표1). 먼저 유전자들에 존재하는 각각의 cis-acting regulatory elements의 평균을 계산을 하였다. 그러나 평균값은 몇몇 개의 프로모터들에서 많은 수의 cis-acting regulatory elements들이 반복적으로 존재하여서 과 평가 되는 경향을 발견하였다. 이런 문제를 해결하기 위하여 두 개의 이상의 element의 copy를 가지는 유전자 upstream, 1개를 가지고 있는 upstream 및 가지고 있지 않는 upstream으로 분류 하였다. 각각의 비교 군들 간에 차이를 검정하기 위하여 하나 이상의 각각의 cis-acting regulatory elements를 가지고 있는 upstream sequence와 가지고 있지 않은 sequence간에 백분율을 계산하여 95% confidence limit를 이용하여 통계 분석을 실시하였다. 각각의 비교 군 간에 차이를 보이는 cis-acting regulatory elements를 표 1에 명시하였다.

차이를 보이는 cis-acting regulatory element들 중 하나는 pyrimidine box (CCTTTT) box로서 (Mena et al 2002) 세 개로 GA-responsive complex를 중 하나이다. 또한 MADS domain protein을 binding 할 수 있는 CARG (CWWWWWWWG) motif (Tang and Perry, 2003)도 차이를 보여주었다. 먼저 pyrimidine box의 경우에는 high RT/RMI에서는 $64.7 \pm 7.6\%$ 를 보였으나, low RT/RMI에서는 $37.5 \pm 19.4\%$ 정도의 차이를 보여주었다. 또한 CARG motif에서는 high RT/AG에서는

Table 1. Summary of selected *cis*-acting regulatory elements located on putative promoter sequences (i.e. within 1000 bp in the 5' direction of the ATG translation start site) of rice pseudomolecules.

	High RT/RMI ^e	Low RT/RMI	High RT/AG	Low RT/AG	pSHR	
No. of tested clones	153	24	148	31	39	
Total promoter length (bp)	153,000	24,000	148,000	31,000	39,000	
No. of <i>Cis</i> -elements ^a	27,245	4,340	26,797	5,521	7,082	
Pyrimidine box (CCTTTT)	Total (%) ^b	64.7±7.6 ^f	37.5±19.4	54.7±8.0	54.8±17.5	43.6±15.6
	Two more (%) ^c	24.8	8.3	21.6	32.3	23.1
	One (%) ^d	39.9	29.2	33.1	22.6	20.5
NC II box (ATAGAA)	Total (%)	52.3±7.9	37.5±19.4	46.6±8.0	41.9±17.4	66.7±14.8
	Two more (%)	22.9	20.8	10.8	6.5	20.5
	One (%)	29.4	16.7	35.8	35.5	46.2
RY repeat box (CATGCA)	Total (%)	42.5±7.8	33.3±18.9	37.8±7.8	32.3±16.5	51.3±15.7
	Two more (%)	17.6	16.7	14.2	12.9	20.5
	One (%)	24.8	16.7	23.6	19.4	30.8
CArG box (CWWWWWWWG)	Total (%)	47.7±7.9	45.8±19.9	46.6±8.0	22.6±14.7	43.6±15.6
	Two more (%)	20.9	20.8	14.9	3.2	20.5
	One (%)	26.8	25.0	31.8	19.4	23.1
GARE box (TAACAAR)	Total (%)	28.8±7.2	41.7±19.7	25.1±7.7	32.3±16.5	23.1±13.2
	Two more (%)	8.5	8.3	7.4	0.0	2.6
	One (%)	20.3	33.3	27.7	32.3	20.5
TATCCA box (TATCCA)	Total (%)	44.4±7.9	29.2±18.2	38.5±7.8	48.4±17.6	35.9±15.1
	Two more (%)	11.1	0.0	9.5	9.7	12.8
	One (%)	33.3	29.2	29.1	38.7	23.1
I box (GATAAG)	Total (%)	41.2±7.8	25.0±17.3	41.9±7.9	41.9±17.4	43.6±15.6
	Two more (%)	12.4	8.3	9.5	3.2	10.3
	One (%)	28.8	16.7	32.4	38.7	33.3
CAREs box (CAACTC)	Total (%)	37.9±7.7	33.3±18.9	46.6±8.0	29.0±16.0	41.0±15.4
	Two more (%)	9.8	4.2	9.5	3.2	15.4
	One (%)	28.1	29.2	37.2	25.8	25.6

^aTotal number of *cis*-acting regulatory elements from both strands of rice pseudomolecules. ^bPercentage of the indicated element family found per putative promoter region. ^cPercentage of promoter regions in which two or more copies of the element were found. ^dPercentage of promoter regions in which only a single copy of the element were found. ^eEach of 31 clones with high RT/RMI as well as high RT/AG were assigned as each of both ratios. ^fThe range about the average indicates 95% confidence limits for p.

46.6±8.0%를 low RT/AGG에서는 22.6±14.7%의 차이를 보여주었다. 또 다른 세계의 *cis*-acting regulatory element들, 즉 TATCCA box (TATCCA), IBOX (GATAAG) 및 GAREs box (CAACTC) 등이 차이를 보여주었다.

3. Domestication에 의한 근경 특이적 유전자들의 진화

1) 두 개의 genotype들에서 근경 특이적 유전자들의 copy 수 비교

근경 특이적 유전자들의 overgo들에 선발된 BAC clone들은 각각의 genotype의 FPC database로 전환을 통해서 loci를 확인하였다. 최소한 하나의 locus에 두 개 이상의 BAC 클론들이 match되는 곳을 가상적인 근경 특이적 유전자가 위치하는 곳으로 평가 하였다. 선발된 54개의 근경 특이적 유전자들 가운데 두 genotype 모두에서 match되는 BAC clone들이 없는 유전자들이 단지 2종류 뿐 이었다. 3종 유전자에서 하나의 genotype에서는 BAC 클론의 match가 보였으나, 다른 하나에서는 match되는 BAC 클론이 보이지 않았다. 이외에 다른 49개의 유전자들에서는 최소한 하나 이상의 locus에서 match 되는 BAC 클론을 확인 할 수 있었다. 각각의 유전자에 대해서 match 되는 locus들에 대한 비교 분석을 그림3에서 보였다. 대부분의 유전자들은 두 개의 genotype 간에 copy 수에 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 흥미롭게도 두 개의 유전자는 서로 매우 다른 copy 수의 차이를 보여 주었다. 예를 들어 RT/RMI19의 경우에는 *S. propinquum*에서는 하나의 overgo (SOG6807)에서 단지 한 개의 copy가 발견이 되었으나, *S. bicolor*에서는 282 개의 다른 loci에서 2개 이상의 BAC clone들이 match되어 졌다. 이와 반대로 RT/MRI27는 *S. propinquum*의 경우에 98 개의 loci들에서 2개의 이상의 BAC 클론이 match되어 졌으나, *S. bicolor*에서는 단지 1개의 locus에서만 BAC clone들이 match되는 다른 copy 양상을 보여 주었다.

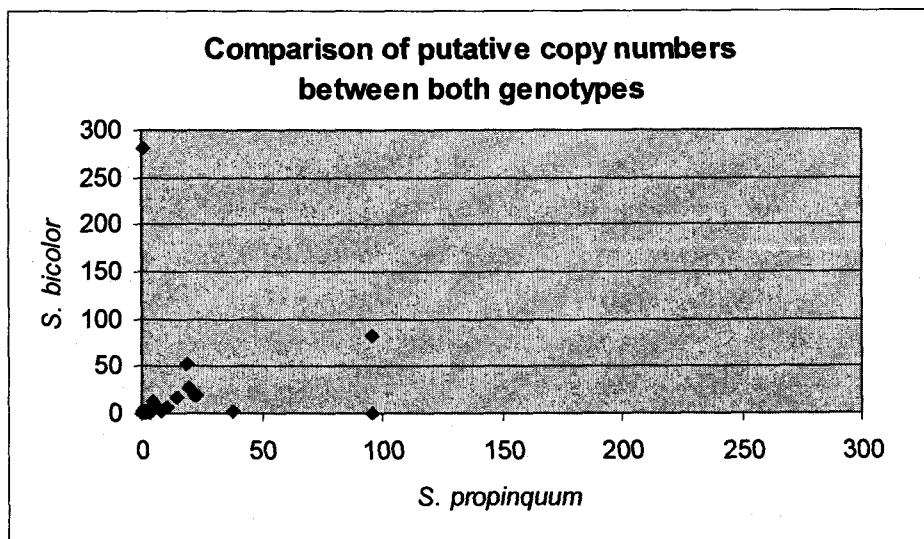


Figure 3. Comparison of putative copy numbers between both genotypes, *S. propinquum* and *S. bicolor*. Copy numbers were estimated with the locus hit with two different BAC clones.

2) Shotgun library를 구축을 통한 근경 특이적 유전자들의 중간 비교 분석

각각의 하나의 locus에서 하나 이상의 candidate BAC clone들을 선발을 한 후, gene-specific primer를 이용하여 PCR 분석을 실시하였다. PCR 분석을 통하여 기대하는 product의 크기를 가지거나 혹은 더 큰 크기를 가지는 것들을 direct로 염기서열 분석을 실시하였다. PCR 분석 및 비-수수 간의 비교 유전자 지도 분석을 통해 42개의 유전자를 위한 두 개의 genotype들로 BAC 클론들을 확보하여 다음 분석에 이용을 하였다.

Shotgun library 클론들의 크기는 주로 3-4 kbp 정도를 이루고 있었다. Overgo에 의해서 선발된 subclone들은 양방향sequencing에 의해서 분석을 실시하였다. 얻어진 염기서열은 phred/phrap 프로그램을 이용하여 염기서열 assembly를 실시하였다.

*S. halepense*는 두 개의 다른 계통 (*S. propinquum*과 *S. bicolor*)들로 구성이 되어있다. 이 종에 얻어진 근경 특이적 유전자들이 어떤 genome에서 유래된 것인지 확인하기 위하여 cDNA 염기서열들과 두 개의 계통에서 온 BAC 클론들과 유사성을 검정을 해보았다. 아래 표 2에서 보여 지는 것처럼 35개의 양쪽으로부터 일정정도 이상의 염기서열이 얻어진 BAC 염기서열들에 대응하는 cDNA들은 16개가 *S. propinquum*에서 온 클론이며 19개는 *S. halepense*로부터 온 유전자들이었다. *S. propinquum*에서 온 cDNA는 거의 모두 *S. bicolor*에 비해 *S. propinquum*에서 온 BAC 클론 염기서열들과 더 높은 유사성을 보였다. 이에 반면 *S. halepense*에서 유래된 19개의 cDNA들 중 10개의 *S. propinquum*의 BAC 클론 염기서열들과 더욱 유사하였고, 단지 1개의 클론만이 *S. bicolor*의 그것과 유사하였다. 나머지 9개의 cDNA는 유사성 여부를 결정할 수 없었다.

Table 2. Genome origin of *S. halepense*-derived cDNAs

No. of genes	No. of BAC clones ^a	Gene origin		Similarity of <i>S. halepense</i> cDNA		
		<i>S. propinquum</i>	<i>S. halepense</i>	<i>S. propinquum</i>	<i>S. bicolor</i>	Not determined
54	35	16	19	10	1	9

^aNo. of BAC clones indicated to be sequenced from both genotypes

3) BAC 클론들로부터 유래된 유전자 염기서열의 분석

현재까지 약 28개의 유전자 쌍에 대한 BAC 염기서열들을 분석 완료하였다. BAC 염기서열들은 최소한 모든 유전자 부위 (exon, intron 및 3' UTR region)와 1 kbp upstream 염기서열을 확보하였다. Domestication에 의한 근경 특이적 유전자들의 진화 양상에 대한 연구가 현재 진행 중에 있다.

4. 고찰 및 기대효과

1) 근경 특이적 유전들의 분리 및 분석

본 연구는 macroarray를 방법을 기초로 하여 근경 특이적 유전자들을 분리 하였으며, 그것들에 대한 기능적인 특성 분류, 유전체에서 위치, 발현 조절 motif 및 근경 형성 능력에 관련된 QTL과의 관계 등에 대해 접근을 하였다. 비록 근경이 문제 잡종의 방제 측면 및 사료 작물 및 잔

디와 같은 작물에서 중요한 형질이지만 근경에 관련된 transcriptome이 많이 알려져 있지 않기 때문에, 상대적으로 unknown function 및 no match가 많은 분포를 보였다. 근경 발달에 관한 유전적 요인을 결정하기 위한 앞으로의 연구에서 근경 특이적 유전자들은 가운데 근경형성 관련 QTL interval 내에 존재하는 유전자들은 좋은 재료가 될 것이다. 특히 벼-수수(벼와 수수)의 근경형성 관련 비교 지도는 이러한 접근을 위한 좋은 지렛대 역할을 할 것이다. Hu 등이 (2003) 보고한 바에 의하면 약 4700 만 년 전에 동일한 조상으로부터 분화된 화본과(벼와 수수)에서 근경형성에 관련된 QTL의 위치는 서로 유사하였다. 현재 벼 pseudomolecules을 이용할 수 있기 때문에, Hu 등이 보고한 벼-수수 비교 지도를 가지고 다른 유사한 형질에 관련된 분자 마커 등을 이용하여 보다 정밀한 유전자 지도를 작성할 수 있을 것이다. RAAB는 수확 후 주경 및 분얼경의 재생 능력을 보고한 QTL이다 (<http://www.gramene.org>). RAAB의 특성은 생리적인 측면을 볼 때 근경형성과 유사한 기작을 가질 것으로 기대된다. 이에 우리는 기존에 보고된 벼 RAAB QTL을 mapping하기 위하여 사용된 마커들을 벼 pseudomolecules에 blast 분석을 통하여 위치를 결정하였다. 또한 다른 연구팀에서 보고한 (Westerbergh and Doebley, 2004) 옥수수 근경형성에 관련된 마커를 이용하여 벼-수주간 비교 지도를 보다 정교하게 구축을 하였다. 이런 정교한 근경형성 관련 비교 분자 지도들은 원시 상조 염색체들에서 발생한 duplication에 생성된 근경형성 관련 중복 유전자들 간에 그 기능이 종 분화 후에도 잘 보존되어 왔다는 것을 증명할 수 있었다.

Gibberellic acid (GAs)가 근경형성 유전자들 발현 조절 하는데 주된 역할을 할 것이라는 몇 가지 증거가 관찰되었다. 근경은 식물체의 가장 낮은 곳에 있는 마디에 있는 측아로부터 발달 된다. 비록 auxin이 측아를 성장의 억제자로서 역할을 할 것이라는 인지되고 있으나, Chatfield 등은 (2000) cytokinin이 아마도 측아의 발달에 독립적으로 주된 역할을 한다고 제안을 하였다. 근경의 발생 및 발달은 아마도 cytokinin과 같은 식물 호르몬에 의해서 가능할 것이다. 그러나 발생이 된 후, 근경의 성장은 주로 GA에 의해서 나타날 것으로 기대된다. 여기서 우리는 3가지 GA와 관련된 cis-acting regulatory element들, 즉 pyrimidine box, TATCCA box 및 CAREs box들이 high RT/RMI 또는 RT/AG 유전자들에 5'upstream region에서 상대적으로 많은 분포하고 있음을 예측하였다. 이러한 세 개의 element들은 GA 반응을 위하여 필요한 cis-element GARC (GA responsive complex)에 구성원이다. GARS 유전자군, 즉 GAI/RGA 및 이에 대한 ortholog들은 GA signaling에 관한 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다. GAI/RGA에 대한 가장 잘 알려진 기능은 줄기의 성장에 관한 것이다. 식물의 왜성 (dwarf) 특성을 규명하면서 이 유전자 군에 대한 기능이 밝혀지기 시작을 하였다. 그 한 예로 1960 - 70년대의 녹색 혁명을 이끌었던 새로운 밀 품종은 반 왜성이 특성을 가지고 있었으며, 또한 다수량 특성을 가지고 있었다. 이러한 밀 품종은 Rht-B1과 Rht-D1의 두 유전자 (GAI 유전자의 ortholog)들 중 하나가 돌연변이가 되면서 반 왜성을 특성을 가지게 되었으며, 특히 도복에 강한 내성을 가지게 되었다 (Peng et al., 1999). Arabidopsis에서도 GAI/RGA의 유전자 기능이 GA 반응에 대한 negative 역할을 한다고 보고가 되어졌다 (Peng et al., 1997). Richards 등은 (2001) GAI 및 RGI가 GA 결핍 시 GA에 의해서 유도되는 성장을 억제 한다는 가설을 제안하였다. 만약 GA가 결핍 시 GAI/RGA가 GA에 의한 성장을 억제하게 되나 GA가 생성 시 이 유전자들과 GA가 결합을 하게 되어 더 이상 억제가 불가능하고 역으로 GA에 의한 성장이 가능케 한다는 것이다. 그러나 만약 GAI/RGA에 돌연

변이가 발생을 하게 되면, GA와의 결합이 불가능하게 되고 이는 여전히GAI/RGA가 GA 성장 억제제의 역할을 수행함으로써 식물의 성장이 불가능하게 된다는 것이다(Richards et al., 2001).

High RT/RMI에서 하나의 클론 c272이 GRAS 유전자군의 멤버들과 유사한 것을 발견하였다. Rice의 pseudomolecule과 blast 결과 이 클론은Os-GRAS-17 유전자와 가장 높은 homology를 보였으며, 두 번째 best hit 은 DELLA sub-family에 하나인 Os-GRAS 유전자와 두 번째의 높은 homology를 보였다. 두 번째 높은 유사성을 보이는 Os-GRAS-1 gene의 위치는 벼에서 근경의 길이, 절간 길이와 수수의 재생력 형질에 관련이 있는 벼 1번 염색체 상의 *QR11* (RM306 와 RM237) interval 내에 존재 하였다. 그러므로 *QR11*내에 위치한 GAI ortholog는 근경의 길이를 결정할 수 있는 잠재적인 유전자로서 이에 대한 연구가 필요할 것이다. 이러한 발견들은 GA가 모든 근경 특이적 유전자에 발현 조절에 필요한 것은 아니겠지만 많은 이 형질에 관련된 유전자들의 발현을 조절하는데 중요한 역할을 할 것이라 기대된다.

2) Domestication에 의한 근경 특이적 유전자들의 진화 양상

*S. propinqua*과 *S. bicolor*는 형태적인 유사성, 자연 교잡의 가능성, 생리적인 유사성을 고려 해 볼 때 비교적 매우 최근에 종의 분화가 발생 했을 것으로 기대된다. 특히 자연 교잡으로 인한 *S. halepense*의 생성은 이러한 가능성 더욱 잘 설명을 하고 있다. 최근에 Bowers 등 (2005)이 보고한 바에 의하면, 두 종간의 BAC 클론을 이용한 물리적 지도작성 및 synteny에 관한 연구를 보게 되면 두 종간에 게놈 구성이 상당히 유사함을 발견하였다. 하지만 종 분화 이후 heterochromatin 부위는 매우 빠르게 서로 다른 방향으로 진화를 해온 것으로 보여 진다. 우리의 현재 연구도 이와 유사한 결과를 보여 주고 있다. 거의 모든 유전자들은 유사한 copy 수 및 synteny 관계를 유지하는 것으로 보여 진다. 하지만 하나의 다른 예 (RT/RMI19)에서 보여 지듯이 특정 copy 수들이 종 분화 후 매우 짧은 시간에 특정 종 (*S. bicolor*)에서 폭발적인 증가를 보여주고 있다. 현재 Blast 결과에서는 이 유전자는 기존에 알려져 있는 어떤 염기서열과도 유사성을 나타나지 않았다. 다만 *S. bicolor*에서 분석된 게놈 염기서열들과 매우 높은 유사성을 보여 주고 있다. 또한 여기에서는 보여 주시는 않았지만 이 BAC 클론에서 유래된 shotgun 클론들을 분석 한 결과 몇 가지 transposon element 염기서열들이 나타났다. 이를 유추해 볼 때, 이 유전자를 포함하는 DNA 조각들이 종 분화 후 특정 시점에서 폭발적인 증가가 나타났으며, 이러한 증가는 genome rearrangement (예를 들어 heterochromatin 화)에 기여를 한 것으로 기대된다.

*S. halepense*는 *S. bicolor*와 *S. propinqua*간의 자연 종간 교잡에 의한 생성된 allopolyploidy의 전형적인 예이다. 두 개의 다른 형태의 게놈들이 혼합이 되어 있기 때문에 어떠한 게놈에 위치한 유전자 군이 근경 생성 및 발달에 역할을 하는가는 polyploidization 후 게놈의 진화를 설명하는데 중요한 실마리를 제공 할 것이다. 전술한 결과처럼 *S. halepense*의 근경 library에서 유래한 유전자 중에서 약 10 배 정도 (10:1)의 유전자들이 *S. propinqua*에서 유래된 것으로 기대된다. 이러한 결과는 여러 가지 예측이 가능하다. 그 중 하나는 *S. propinqua*에 존재하는 근경 형성에 관여하는 주요 유전자들이 특정 게놈에 존재하는 유전자들을 더 효과적으로 활성화 한다는 것이다. 이와는 다른 가능성은 *S. bicolor*에 존재하는 많은 근경 특이적 유전자들이 조직이 퇴화 되면서 동시에 조직 특이적 발현을 하는 유전자 군들이 집단적인 돌연변이가 발생 했을 것이다.

현재 두 genotype들에서 유래된 BAC 클론들의 염기서열 분석이 완성이 되었으며 지속적인 연구를 통하여 식물의 domestication 이후 조직 퇴화가 유전자에의 발현 및 구성에 어떠한 영향을 끼쳤는지를 밝힐 것이다.

● 발표된 논문의 일부 (근경 특이적 유전자의 분리 및 분석)는 Plant Physiology (2006, 142: 1148-1159, Jang CS, Kamps TL, Skinner DN, Schulze SR, Vencill WK, and Paterson AH, Functional classification, genomic organization, putatively cis-acting regulatory elements, and relationship to quantitative trait loci, of sorghum genes with rhizome-enriched expression)에 발표되었음.

5. 참고 문헌

- Bowers JE, Arias MA, Asher R et al., (2005) Comparative physical mapping links conservation of microsynthety to chromosome structure and recombination in grasses. Proc Natl Acad Sci USA 102: 13206-13211
- Chatfield SP, Stimberg P, Forde BG, Leyser O (2000) The hormonal regulation of axillary bud growth in Arabidopsis. Plant J 24: 159-169
- Holm LG, Plucknett DL, Pancho JV, Herberger JP (1977) The world's Worst Weeds: Distribution and Biology. University Press of Hawaii, Honolulu. pp. 55-61.
- Hu FY, Tao DY, Sacks E, Fu BY, Xu P, Li J, McNally K, Khush GS, Paterson AH, Li ZK (2003) Convergent evolution of perenniality in rice and sorghum. Proc Natl Acad Sci USA 100: 4050-4054
- Mena M, Cejudo FJ, Isabel-Lamoneda I, Carbonero P (2002) A role for the DOF transcription factor BPBF in the regulation of gibberellin-responsive genes in barley aleurone. Plant Physiol 130: 111-119
- Paterson AH, Bowers JE, Chapman BA (2004) Ancient polyploidization predating divergence of the cereals, and its consequences for comparative genomics. Proc Natl Acad Sci USA 101: 9903-9908
- Paterson AH, Schertz K, Lin Y-R, Liu SC, Chang YL (1995) The weediness of wild plants: Molecular analysis of genes influencing and dispersal and persistence of johnsongrass, Sorghum halepense (L.) Pres. Proc Natl Acad Sci USA 92: 6127-6131.
- Peng J, Carol P, Richards DE, King KE, Cowling RJ, Murphy GP, Harberd NP (1997) The Arabidopsis GAI gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. Gene. Dev. 11: 3194-3205
- Peng J, Richards DE, Hartley NM, Murphy GP, Devos KM, Filtham JE, Beales J, Fish LJ, Worland AJ, Pelica F, Sudhakar D, Christou P, Snape JW, Gale MD, Harberd NP (1999) 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. Nature 400: 256-261
- Richards DE, King KE, Ait-ali T, Harberd NP (2001) How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio 52: 67-88

-
- Tang W, Perry SE (2003) Binding site selection for the plant MADS domain protein AGL15. *J Biol Chem* 278: 28154-28159
- Toyofuku K, Kasahara M, Yamaguchi J (2000) Characterization and expression of monosaccharide transporters. *Plant Cell Physiol* 41: 940-947
- Westerbergh A, Doebley J (2004) Quantitative trait loci controlling phenotypes related to the perennial versus annual habit in wild relatives of maize. *Theor Appl Genet* 109: 1544-1533