

# CYANOBACTERIA에 대한 최근 연구동향 및 전망

## —유전자 발현의 광조절 기작에 대한 연구의 모델 생명체—

김 영 창

충북대학교 자연과학대학 미생물학과

### 머리말

빛은 모든 생명체를 존재하게 하는 근본이다. 빛은 광합성을 가능하게 하여 모든 생명체가 필요로 하는 산소와 영양분을 제공할 뿐만 아니라 생물의 성장과 발생과정에 광범위하게 영향을 미치고 있다. 우리는 그 동안의 오랜 연구과정을 통하여 광합성 과정과 그 기구에 관한 많은 정보를 얻었다. 특히 purple nonsulfur bacteria의 반응중심(reaction center)의 결정구조가 밝혀진데 이어 cyanobacteria의 광계(photosystem) I 반응중심도 결정화되어(Ford 등, 1987) 광합성 기구의 분자구조를 이해할 수 있는 터전이 마련되었다. 그러나 빛에 의해 생명의 제한상들이 어떻게 조절되는가 하는 원천적인 질문에 우리는 아무 대답도 할 수 없는 실정이다.

식물체에서 일어나는 유전자 발현의 광조절 현상은 매우 복잡하다. 이는 각 유전자들이 조직에 따라 질적, 양적, 시간적 측면에서 빛에 대한 반응에 커다란 차이점을 보이고 있기 때문이다. 따라서 식물체를 대상으로 광조절 기작을 연구하는 데는 현상의 복잡성과 실험과정의 기술적, 시간적, 경제적 제약이 많기 때문에 이에 관한 연구가 아직 초보적 수준에 머물고 있다.

광합성 세균 중에서 purple bacteria나 green bacteria와는 달리 식물성 광합성을 하며, 식물체보다 세포구조가 훨씬 간단한 cyanobacteria는 유전자 발현의 광조절 기작을 연구하는데 간단, 명료한 "model"로서 기대되는 바 크다. 따라서 이 글에서는 cyanobacteria의 광계와 광합성 색소인 chlorophyll의 생합성 과정을 중심으로 광조절 현상에 대한 최근 연구 동향과 전망을 살펴보고자 한다.

### 모델 생명체로서의 CYANOBACTERIA

Cyanobacteria는 고등식물과 매우 유사한 산소 발생 광합성 기구를 갖고 있는 광독립영양 원핵생물로서 형태적으로나 생리적으로 매우 다양하다. 이들은 담수, 해수, 토양 등에 서식하고 있으며 filament 형과 단세포형이 있다. 또한 gliding motility, 질소동화작용과 heterocyst 분화 등에 있어서 다양성을 보이고 있다. 이들은 유전자 발현의 광조절 기작을 유전학적으로 또는 분자생물학적으로 분석하기에 적합한 특성들을 많이 지니고 있다.

#### 1. 식물성 광합성을 한다.

Cyanobacteria는 세포질에 thylakoid 막을 갖고 있으며, 이 막에 광계 I과 광계 II가 자리하고 있고 집광기인 phycobilisome이 thylakoid 막의 바깥쪽(protoplasmic side)에 붙어있다. Cyanobacteria는 H<sub>2</sub>O 이외에 여러가지 다른 물질들을 전자공여체로 이용하여 광합성을 할 수 있는데 이 능력은 3-(3,4-dichloro phenyl)-1,1-dimethylurea(DCMU)에 의해 저해되지 않기 때문에 광계 I에 의해 나타나는 것으로 보인다.

#### 2. 화학종속영양으로도 살 수 있다.

최적 광독립영양 하에서 세대시간이 3.5-6.5 시간으로 빠르게 성장하며 높은 광도(100-250  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )와 온도(34-39°C)에서 잘 자라고 광계 I과 광계 II가 모두 작동한다. 공기 중의 CO<sub>2</sub>와 함께 배지에 glycerol 또는 포도당을 첨가하여 빛을 조사해주면 혼합영양(mixotrophy)으로 성장하며(세대시간, 약 5.5 시간), 같은 생육조건하에서 광계 II를 억제하는 DCMU를 첨가하면 광종속영양으로 살아간다(세대시간, 약 14 시간). 이때는 광계 I에 의한 환형 광

인산화 과정을 통해 에너지를 얻으며 당을 탄소원으로 이용한다. 그리고 빛이 완전히 차단된 상태에서는 산화적 오탄당인산회로(oxidative pentose-phosphate cycle)을 통해 glycerol 또는 포도당과 같은 유기화합물을 탄소와 에너지원으로 이용하며 화학종속영양으로 살아갈 수 있다(세대시간, 19-26 시간). *Synechocystis* PCC 6803은 빛이 없는 곳에서는 살 수 없으나 희미한( $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 청색광을 하루에 5분간만 비춰주면 살 수 있는데 이와 같은 생장을 light-activated heterotrophic growth라고 한다(Anderson과 McIntosh, 1991).

### 3. 다양한 돌연변이체를 얻을 수 있다.

Cyanobacteria에 돌연변이를 유발하는 데에는 NTG 등을 이용한 통상적인 돌연변이 방법(Herdman 등, 1980) 이외에도 여러가지 insertional mutagenesis(Labarre 등, 1989) 방법들이 이용되고 있다. *Synechococcus*는 성장속도에 따라 약간 다르지만 세대기간이 7-20 시간 정도일 경우에는 genome의 copy 수가 세포당 대략 3 개로 유지되기 때문에(Armbrust 등, 1989), 돌연변이체를 분리할 때에는 homozygous한 돌연변이체가 segregation되도록 세심한 주의를 기울여야 한다. 그러나 p-hydroxymercuribenzoate는 광합성을 왕성하게 하는 세포만을 선택적으로 죽이기 때문에 돌연변이체를 쉽게 증폭시킬 수 있다(Astier 등, 1984). 영양상이 다양하기 때문에 광합성 기구와 광조절 기작에 이상이 생긴 조건치사돌연변이체를 얻기가 용이하다. 즉 광종속영양으로 생장하는 데에는 광계 I만이 필요하며 광계 II는 필요하지 않기 때문에 광계 II에 결함을 갖고 있는 돌연변이체를 손쉽게 얻을 수 있다. 또한 광계 I 또는 cytochrome b<sub>6</sub>f 복합체에 결함이 있는 돌연변이체는 종속영양으로 생장시킬 수 있다.

### 4. 유전학적 분석이 용이하다.

Cyanobacteria 중에서 *Synechococcus* sp. PCC 7002와 *Synechocystis* strain PCC 6803은 *E. coli*와는 달리 자연적으로 외부로부터 DNA를 받아들이는 형질전환 능력을 지니고 있으며 선형과 환형 DNA 모두 높은 빈도로 형질전환을 일으킬 수 있다(Buzby 등, 1983; Essich 등, 1990). 또한 다양한 shuttle cloning vector들도 개발되어 있다(Kuhlemeier 등, 1981; Wolk 등, 1984). 따라서 각종 돌연변이체에

재조합 plasmid로 형질전환하여 야생형을 나타낸 transformant를 분리함으로써 광수용체, 광신호전달 기구 및 광조절 유전자 등을 클로닝한다면 보다 쉽게 분자 기작을 연구할 수 있게 될 것이다. 이들의 genome 크기가 대장균 정도이므로 genome의 제한효소지도 작성이 용이할 것으로 생각되는데 이런 점에서 Not I 절편의 pulsed-field 전기영동을 행한 Golden 등(1989)의 실험이 주목된다. 물리적지도가 완성되면 여러 돌연변이체에 제한효소 절편들을 형질전환해 봄으로써 유전자 지도도 만들 수 있을 것으로 기대된다. 또한 Kreps 등(1990)은 IncQ plasmid pKT210(Cm<sup>r</sup>, Sm<sup>r</sup>)이 IncP의 transfer 기능의 도움을 받아 *E. coli*에서 *Synechocystis*로 conjugal transfer됨을 보고하였다. 따라서 conjugation을 이용한 유전자 지도 작성도 가능하리라 여겨지며 phage들도 발견되어 있기 때문에 유전자 지도 작성에 큰 도움이 될 수 있을 것이다.

이상에서 살펴본 바와 같이 분자 유전학적 방식에 의한 광합성 및 유전자 발현의 광조절 현상을 구명하는데 모델 생명체로서 기대되는 바 크다.

## CYANOBACTERIA의 광합성 기구 생성과 광조절

광합성에 사용되는 주요 색소들은 tetrapyrrole과 carotenoid로 대별할 수 있는데 이중 tetrapyrrole계에 속하는 것으로는 거대 환형 구조를 갖는 chlorophyll 과 linear 구조인 phycobilin이 있다. Cyanobacteria에서는 chlorophyll 중, chlorophyll a 만이 발견되며, phycobilin으로는 phycocyanobilin(PCB), phycoerythrobilin(PEB) 등이 발견된다. Carotenoid로는  $\beta$ -carotene이 thylakoid 막에서, xanthophyll이 세포내막과 외막에서 발견된다(Reddy 등, 1989).

### 1. Phycobilisome

Cyanobacteria의 집광기인 phycobilisome은 phycobiliprotein과 linker 단백질로 이루어져 있으며 anchor 단백질(LCM)을 통하여 광계 II와 연결되어 있다. Phycobiliprotein에는 PCB를 갖고 있는 phycocyanin(PC,  $\lambda_{max}$  = 610-630 nm)과 allophycocyanin( $\lambda_{max}$  = 650-670 nm), PEB를 갖고 있는 phycoerythrin(PE,  $\lambda_{max}$  = 490-570 nm), 등이 있다. 이들은 모두

서로 다른 두개의  $\alpha$ -,  $\beta$ -subunit로 구성되어 있으며, *cpcBA*(Anderson과 Grossman, 1990a), *apcAB*, *cpeBA*(Anderson과 Grossman, 1990b)에 각각 암호화되어 있다.

Cyanobacteria는 그들이 서식하는 곳에서 빛의 파장이 변하면 phycobiliprotein의 조성을 바꾼다. 이 현상을 chromatic adaptation이라고 하는데 이는 빛의 흡수를 최적화하기 위함이다. *Fremyella diplosiphon*은 적색광에서 PC 함량이 증가하고 PE 함량이 감소하지만, 녹색광에서는 반대로 PC 함량이 감소하고 PE 함량이 증가한다(Federspiel과 Grossman, 1990). *Synechocystis* 6701에서는 파장에 따라 PE 함량이 조절되지만 PC 함량은 일정하게 유지되고 있다. 즉 녹색광에서 키운 세포는 적색광에서 키운 세포보다 PE 함량이 많다. PE 유전자(*cpcBA*)는 전사개시의 조절 뿐만 아니라 전사후 조절도 받는 것으로 알려졌다(Anderson과 Grossman, 1990b). 또한 파장 뿐만 아니라 광도와 영양상태에 따라 phycobiliprotein의 조성이 변화된다. 이러한 현상은 광수용체가 빛을 흡수해서 부터 최종 산물인 단백질이 양적으로 변화되기 까지 일련의 세포내 반응을 추적해 볼 수 있는 좋은 재료이다.

## 2. 광계 I

Rögner 등(1990)은 *Synechocystis* PCC 6803의 광계 I 핵심복합체를 분리하였다. 광계 I 핵심복합체는 약 60 kDa인 2 개의 단백질(*psaA*와 *psaB*)과 여러 작은 단백질(*psaC*, *psaD*, *psaE* 등)로 구성되어 있다. 이들 유전자들의 염기배열은 대부분 알려졌다.

## 3. 광계 II

광계 II 핵심복합체(core complex)는 CP47, CP43, D1, D2와 cytochrome b559 등, 5 개의 내재성 막단백질과 적어도 3개 이상의 외재성 막단백질로 되어 있다. 이 중에서 D1, D2, cytochrome b559의 2개의 subunit(9와 4 kDa), 등 4개의 polypeptide는 4-5개의 chlorophyll a(CHLA) 분자, 두개의 pheophytin(PHEO) 분자, 한개의 heme, 1-2개의 non-heme Fe, 한개의  $\beta$ -carotene 등과 함께 광계 II 반응중심을 구성하고 있다. Polypeptide D1과 D2는 1, 2차 전자공여체(P680과 Z)를 갖고 있으며 또한 초기 전자수용체(PHEO)와 quinone 수용체( $Q_A$ 와  $Q_B$ )를 갖고 있다(Mattoo 등, 1989). *Synechocystis*

PCC 6803의 광계 II 핵심복합체도 Rögner 등(1990)에 의해 분리되었다.

D1 polypeptide는 *psbA* 유전자에 의해 암호화되어 있으며 유전자 발현과정상의 여러 단계에서 빛에 의해 조절 받고 있다(Mattoo 등, 1989). 고등식물과 *Chlamydomonas*의 *psbA* 유전자 발현은 주로 해독 단계에서 광조절을 받고 있다. 그러나 cyanobacteria (Mohamed와 Jansson, 1989)는 전사 단계에서 조절받는 것으로 알려져 있다. *Synechococcus* sp. strain PCC7942의 genome에는 세개의 *psbA* 유전자가 존재한다. *psbAI*은 I형의 D1 단백질을 암호화하고 있고, I형과 360개 아미노산 중 25개가 상이한 II형은 *psbAII*와 *psbAIII* 유전자에 암호화되어 있다. *psbAII*와 *psbAIII*는 광도가 낮을 때에는 전사가 일어나지 않으나 *psbAI*은 오히려 증가된다. 이와같이 *psbA* 유전자들의 광조절은 주로 전사과정에서 일어난다.(Bustos 등, 1990). 또한 D<sub>2</sub>를 암호화하고 있는 *psbD* 유전자는 *psbDI*과 *psbDII*의 두개가 있는데 이중 *psbDI*은 polypeptide CP43을 암호화하고 있는 *psbC* 유전자와 함께 전사된다. 이들은 *psbA* 유전자와 같은 조절 양상을 보이나 *rbcL*과 *rbcS* 유전자는 광량이 적을 때 오히려 전사과정이 촉진된다. *psbH* 유전자는 8 kDa의 광계 II 단백질을 암호화하고 있는데 그 기능은 아직 밝혀지지 않았다. 이 단백질은 옥수수, 밀, 시금치의 경우 thylakoid 막에 결합된 protein kinase에 의해 인산화되며, 이 인산화 과정은 빛에 의한 plastoquinone의 환원에 의해 촉진된다. 탈인산화 반응은 thylakoid phosphatase에 의해 일어난다. *Synechocystis* 6803의 *psbH* 유전자는 고등식물의 *psbH* 유전자와 상동성을 보이나 인산화되지는 않는 것으로 보인다(Abdel-Mawgood와 Dilley, 1990).

Cytochrome b<sub>559</sub>의  $\alpha$ 와  $\beta$  subunit를 암호화하고 있는 유전자인 *psbE*와 *psbF*가 클로닝되고 돌연변이체를 이용하여 cytochrome b559의 기능을 밝혀나가고 있다(Pakrasi 등, 1988). 이상에서 살펴본 바와 같이 광합성 기구를 암호화하고 있으면서 광조절을 받는 구조유전자들에 대한 연구는 많이 진행되고 있으나 광조절 현상의 핵심인 광조절 단백질을 암호화하고 있는 광조절 유전자(들)는 아직 연구되지 못하고 있다.

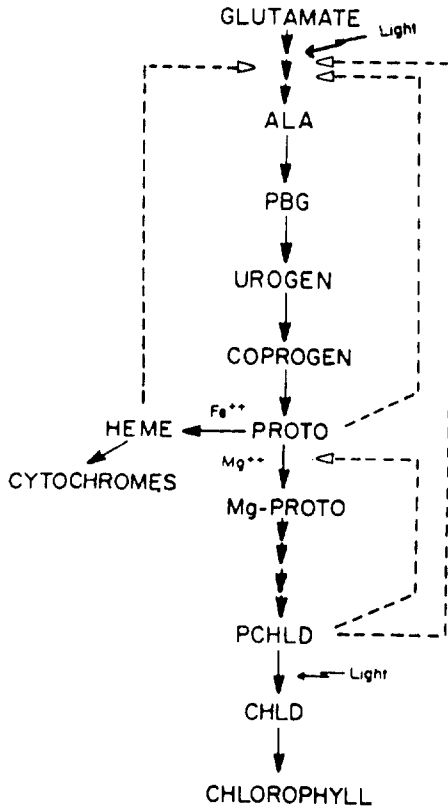


그림 1. Chlorophyll의 생합성 경로 및 조절. Chlorophyll 생합성 경로는 주로 ALA 생성과정에서 조절되는데 빛에 의한 조절과 PROTO, heme, PCHLD에 의한 feed-back 억제를 받는다. ALA,  $\delta$ -aminolevulinat; PBG, porphobilinogen; UROGEN, uroporphyrinogen; COPROGEN, coproporphyrinogen; PROTO, protoporphyrin IX; PCHLD, protochlorophyllide; CHLD, chlorophyllide.

## Chlorophyll 생합성과 광조절

고등식물의 plastid와 cyanobacteria에서 일어나는 chlorophyll 생합성 과정(그림 1)의 첫번째 committed precursor는 5-aminolevulinat(ALA)이다. ALA는 ALA dehydratase(PBG synthase, *hemB* 유전자 산물)에 의해 두 분자가 합쳐져서 porphobilinogen(PBG)이 형성되며 4분자의 PBG가 hydroxymethylbilane (HMB) synthase(*hemC* 유전자 산물)와 uroporphyrinogen III(UROGEN) synthase(*hemD* 유전자 산물)에 의해 cyclic tetrapyrrole

형태의 중간물질인 UROGEN이 된다(Hansson등, 1991; Delaunay등, 1991). 결국 8 분자의 ALA가 porphyrin 고리를 형성하게 된다. 이 과정은 chlorophyll 합성 뿐만 아니라 heme과 vitamin B12와 같은 corrinoids 합성에도 관계되기 때문에 모든 생명체의 필수적 요소이다.

빛이 없는 곳에서 기른 식물체의 잎은 chlorophyll이 없기 때문에 노랗게 되는데 여기에 ALA를 공급해 주면 수 시간안에 녹색 빛을 띄게 된다. 이는 protochlorophyllide(PCHLD)가 생성되기 때문이다. 이와같은 실험결과는 빛이 없는 곳에서 성장한 잎의 plastid 내에 ALA로 부터 PCHLD로 전환하는데 필요한 모든 효소가 존재한다는 것을 의미하며, 따라서 어둠 속에서는 ALA가 만들어지지 않으며 ALA 생산에 필요한 효소들의 합성에는 빛이 필요하다는 것을 알 수 있다.

ALA 생합성 경로는 세가지가 알려져 있다. 첫째,  $C_4$  경로에서는 ALA synthase가 glycine과 succinyl-CoA로 부터 직접 ALA를 합성한다. 둘째,  $C_5$  경로에서는 glutamate로 부터 세 단계를 거쳐 ALA가 생성된다(그림 2). 셋째, alanine-4,5-dioxovalerate (DOVA) transaminase가 관여하는 ALA 생합성 경로도 있다. 본란에서는 chlorophyll 생합성시에 주로 사용되는  $C_5$  경로에 대해서만 살펴보기로 한다.

### 1. Glutamyl-tRNA<sup>Glu</sup> synthetase

식물체의 chloroplast에 존재하는 이 효소는 세포질에 존재하는 것과는 서로 다르며, chloroplast의 tRNA<sup>Glu</sup>와 glutamate로 부터 glutamyl-tRNA<sup>Glu</sup>를 합성한다(그림 2). 이 효소는 지금까지 밀, 보리, *Chlamydomonas*와 *Chlorella* 등에서 순수 분리되었으며 대략 51-56 kDa의 subunit로 되어 있음이 알려져 있으나 핵에 위치한 효소 유전자는 아직 클로닝된 바 없다.

*Synechocystis*와 *Chlamydomonas*를 제외한 대부분의 식물체 chloroplast에는 tRNA<sup>Glu</sup> 유전자(*trnE*)가 하나 밖에 없다(O'Neill과 Söll, 1990). 그러나 chloroplast에는 대부분 두 종류 이상의 tRNA<sup>Glu</sup>가 존재하고 있다. 이것은 tRNA의 modification 과정이 서로 달리 일어난 결과로 생각된다. 이 두 종류의 tRNA<sup>Glu</sup>가 *in vitro* 실험에서 ALA 합성과 단백질 합성에 모두 사용될 수 있는 것으로 나타났다. 그

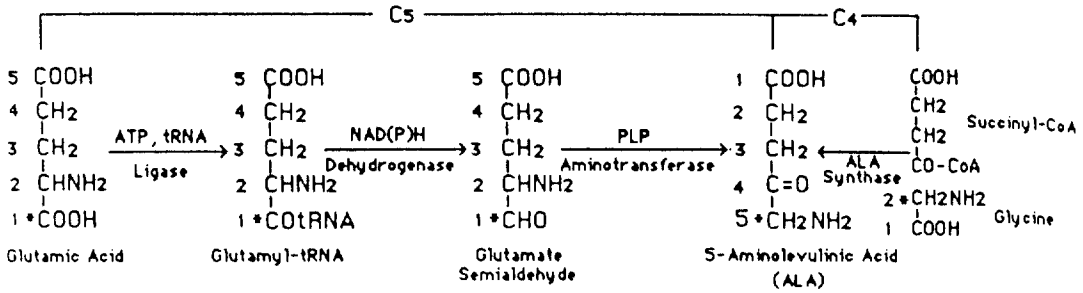


그림 2.  $\delta$ -aminolevulinic acid 생합성의 C<sub>5</sub>와 C<sub>4</sub> 경로(from Li *et al.*, 1989).

렇다면 두 종류 이상의 tRNA<sup>Glu</sup>가 존재해야 할 이유는 무엇인가? *in vivo*에서도 역할 분담이 이루어지지 않는가? 그렇다면 이것은 chlorophyll의 생합성과 chloroplast의 단백질 합성을 연계시켜 빛에 의해 통합 조절되도록 하기 위한 수단인가? 이 의문들에 답하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다.

### 2. Glutamyl-tRNA<sup>Glu</sup> reductase

이 효소는 분리 정제시 활성을 쉽게 잃어버리기 때문에 아직까지 그 특성이 명확하게 구명되지는 않았지만, 최근 Chen 등(1990)이 *Chlamydomonas*로부터 glutamyl-tRNA reductase(dehydrogenase)를 분리하는데 성공하였으며, 이 효소는 130 kDa의 monomer임을 밝혔다.

지금까지 대장균에서는 ALA synthase에 의해서 ALA가 합성되며 이 효소는 27분 위치에 존재하는 *hemA* 유전자, 또는 4분 위치에 있는 *popC* 유전자에 암호화되어 있을 것으로 믿어왔다. 그 이유는 이들 유전자에 이상이 생긴 ALA 요구성 돌연변이체에 *Rhodobacter sphaeroides*와 쥐등의 ALA synthase 유전자를 형질전환함으로써 ALA 요구성이 사라짐을 관찰하였기 때문이다. 그러나 Verkamp와 Chelm(1989) 등이 대장균의 *hemA* 유전자의 염기배열을 밝혀내고 다른 생물체의 ALA synthase 유전자의 염기배열과 비교한 결과 전혀 상동성이 발견되지 않았다. 또한 대장균은 C<sub>5</sub> 경로를 거쳐 ALA를 합성하며(Avissar와 Beale, 1989; O'Neill 등, 1989), *hemA* 유전자는 ALA synthase가 아니라 glutamyl-tRNA dehydrogenase나 또는 그 subunit를 암호화하고 있는 것으로 밝혀졌다(Grimm 등, 1990). 최근 *Bacillus subtilis*에서는 glutamate에서 Urogen이 합성되는데 관여하는 효소유전자군인 *hemAXCDBL* operon이 클로닝되었다(Hansson 등, 1991).

ALA 합성 단계에서 빛에 의해 조절되는 효소로는 glutamyl-tRNA reductase가 주목을 받고 있다(O'Neill과 Söll, 1990). 따라서 *hemA*를 probe로 사용하면 광합성 생물체의 glutamyl-tRNA reductase 유전자를 클로닝할 수 있고 더불어 광조절 기작을 연구할 수 있을 것으로 기대된다.

### 3. Glutamate 1-semialdehyde aminotransferase

Glutamate 1-semialdehyde(GSA) aminotransferase는 GSA를 ALA로 전환시켜 주는 효소(그림 2)로서 고등식물체와 조류 및 여러 세균들에서 발견되는 수용성 단백질이며 대략 80 kDa이다. 현재까지 GSA aminotransferase 유전자의 염기배열은 *Synechococcus*에서만 밝혀졌으며(Grimm 등, 1990) 보리의 경우에는 cDNA의 염기배열이 알려졌다.

Grimm 등(1990)은 대장균의 *popC* 유전자 염기배열로부터 효소의 아미노산 배열을 알아내고 이것을 *Synechococcus*의 효소와 비교한 결과, 54%가 일치하였다. 따라서 *popC* 유전자는 GSA aminotransferase를 암호화하고 있는 것으로 받아들여지고 있으며, 앞서의 *hemA* 유전자의 결과와 더불어 대장균이 C<sub>5</sub> 경로를 거쳐 ALA를 합성한다는 것을 강력히 시사한다.

이상에서 살펴본 바와 같이 ALA 생합성에 관련된 세 효소 유전자와 tRNA<sup>Glu</sup> 유전자에 대한 연구는 이제 그 시작단계에 있다. 어느 유전자가 주로 광조절을 받고 있으며 그 분자기작은 어떠한가? 앞으로의 중심 연구과제라 하겠다.

### 앞으로의 연구 방향

빛이 유전자 활성의 변화를 유도하는 분자수준의

기작을 완전하게 이해하기 위해서는 빛이 특별한 광수용체에 의하여 인지되고, 이어 신호확대 및 전달 과정을 거쳐 하나 또는 둘 이상의 조절인자의 활성 변화를 유도하여, 궁극적으로 특정 유전자들의 발현이 조절되는 전과정을 밝혀야만 한다. 유전자 발현의 조절은 유전자의 활성화 조절, 전사 및 전사 후 조절, 해독 및 해독 후 조절 등으로 나누어 볼 수 있는데 여기에 관여하는 조절유전자와 조절인자, 이들이 결합하는 *cis*-acting DNA elements 등에 관한 연구가 진행되어야 한다. 광독립영양 또는 광종속영양으로 생장할 수 없는 돌연변이체 중에는 광수용체, 광신호 전달 기구, 세포내 조절반응 중 어느 부분에 결함이 있는가를 분석한다면 광수용체 돌연변이체, 광신호 전달 돌연변이체, 광조절 유전자 돌연변이체 등을 얻을 수 있고 이들로 부터 광조절 현상을 설명할 수 있는 가설을 세울 수 있을 것이다.

### 1. 광수용체(photoreceptor)

식물은 phytochrome, blue light/UV-A 광수용체 (cryptochrome), UV-B 광수용체 등, 여러 광수용체를 갖고 있는데 이중 phytochrome이 제일 많이 연구되었다. Phytochrome은 약 120 kDa의 polypeptide가 dimer를 형성하고, phytochromobilin 색소가 단백질과 thioether 결합을 하고 있다(Jones와 Quail, 1986). 이 chromoprotein은 광에 의해 서로 전환되는  $P_{fr}$ (최대흡수파장, 730 nm)과  $P_r$ (최대흡수파장, 665 nm) 두 형태로 존재한다. 근적외적색광(far-red light)은  $P_{fr}$ 을  $P_r$ 로 변형시키고 적색광은  $P_r$ 을  $P_{fr}$  형태로 전환시키는데 이중  $P_{fr}$ 이 활성을 갖는 형태로서 여러가지 생물학적 반응을 유도한다. 그러나 아직 정확한 분자기작은 밝혀지지 않고 있다.

식물체에는 여러 종류의 광수용체가 존재하며 각 수용체의 구조 유전자도 여럿인 것으로 보인다(Sharrock과 Quail, 1989). Cyanobacteria에도 phytochrome과 유사한 광수용체가 있는지, 또한 이외의 다른 어떤 광수용체가 있는지는 아직 밝혀지지 않고 있다. 또한 아주 적은 양의 청색광이 화학종속영양에 필수적이라는 사실은 이 생명체에 청색광수용체가 존재하며 청색광이 종속영양대사, 세포주기, 세포분열을 조절하는 하나의 신호로 작용하고 있다는 것을 의미한다(Anderson과 McIntosh, 1991). 따라서 청색광수용체에 의한 광신호 전달과 유전자 발현의 광조절 기작을 연구하는데 좋은 재료로 생각된다.

### 2. 신호전달(signal transduction)

광수용체에 의한 빛의 흡수가 조절 인자들의 활성화를 어떻게 유도하는가? 이미 알려진 동물세포의 신호전달 경로들과 비슷하게 광신호 전달은 광수용체가 빛을 흡수한 후 G-단백질의 GTP 결합, calcium의 유입, calmodulin 활성화 (Lam 등, 1989), inositol 인지질의 turnover 촉진, 단백질의 인산화 과정을 통해 신호가 확대되고 전달되는 것으로 생각된다. Romero 등(1990)은 귀리에서  $P_r$  형의 phytochrome은 24 kDa의 G-단백질이 GTP와 결합하는 것을 억제하지만  $P_{fr}$  형은 억제하지 않는다는 *in vitro* 결과를 보고하였다. 이 결과는 광신호가 G-단백질을 거쳐 전달된다는 것을 시사한다. 그러나 *in vivo* 결과는 아직 얻지 못하고 있다. 광합성 세균의 광신호 전달 경로에 대한 유전학적 연구는 식물에서 일어나는 이 과정을 이해하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각되며, 앞으로 광수용체의 종류에 따라 신호 확대와 전달 경로가 어떻게 달라지느냐에 대해서도 연구되어야 할 것이다.

### 3. 유전자 발현의 광조절 기작

하나의 환경요인에 의하여 동시에 통합조절되는 일군의 유전자들은 대개 각 유전자의 전사 시작 위치로 부터 upstream 쪽에 있는 *cis*-acting DNA elements에 *trans*-acting factor가 작용함으로써 전사개시 단계에서 발현이 조절되어진다. 식물 유전자의 광조절에 관여하는 light response element (LRE)를 알아내기 위한 연구가 현재 진행되고 있다.

현재까지의 녹색 식물에 관한 연구는 빛에 의해 조절되며 transcripts와 단백질이 비교적 많이 생산되어 연구하기가 용이한 유전자들에 집중되어 왔다. 완두의 *rbcS-3A* 유전자의 전사개시위치에서 -330과 -50 사이의 부위에는 빛에 의한 조절과 발생 단계에 따른 조절에 필요한 정보가 담겨 있다. 이 부위는 방향성에 관계없이 조절 기능을 나타내며, 이런 점에서 enhancer와 유사하다. 이 부위에는 염기배열이 같지는 않지만 서로 유사한 6 개의 GT box가 발견되는데 이중 box II와 box III는 SV40의 enhancer와 매우 유사한 염기배열을 갖고 있다. 이 부위에 돌연변이를 유발하면 빛을 조사해도 전사가 촉진되지 않는다(Green 등, 1988). 이와같은 결과는 이 부위가 광조절에 중요한 양성인자로 작용한다는 것을 뜻한다. 그러나 빛을 쬐이면 오히려 전사가

억제되는 phytochrome 유전자의 upstream에서도 이와 유사한 부위가 발견된다(Hershey 등, 1987; Bruce 등, 1989; Sharrock과 Quail, 1989). 따라서 GT box는 음성인자와 양성인자의 두 성질을 동시에 갖고 있거나 두 인자가 부분적으로 중첩되어 있는 것으로 보인다. 또한 promoter 부위(-50에서 +15 까지도)도 조직 특이성은 없지만 광조절에 관여하고 있다(Kuhlemeier 등, 1989). 이와같이 완두의 *rbcS-3A* 유전자도 다른 진핵생물의 유전자와 마찬가지로 양성적 또는 음성적으로 작용하는 여러 *cis-acting element*와 *trans-acting* 조절인자들이 빛과 같은 환경요인과 조직 또는 발생 단계에 따라 복잡하게 조절되는 것으로 보인다. 따라서 확실한 LRE elements를 알아내기 위해서는 좀더 많은 유전자 간의 상세한 비교 분석과 아울러 조절양상이 간단, 명료한 모델 유전자의 연구가 요망된다 하겠다. Ferrino와 Chauvat(1989)는 *cat* reporter 유전자를 사용하여 *Synechocystis*를 숙주균으로 하는 promoter-probe vector를 제조하였다. 이를 이용하면 광조절을 받는 유전자의 light response element(LRE) 부위를 찾아낼 수 있을 것으로 기대된다(Lang과 Haselkorn, 1991).

한편, 완두의 *rbcS-3A* 유전자의 광조절에 관여하는 *trans-acting factor*는 아직 밝혀지지 않았다. GT-1으로 명명된 핵단백질이 *in vitro*에서 GT box에 결합한다는 것을 알아냈지만, 어둠 속에서 키운 세포에도 GT-1이 존재하며 *in vitro*에서 GT box에 결합할 수 있기 때문에(Green 등, 1988) GT-1의 정확한 세포내 역할은 아직 분명치 않다. GT-1이 general transcription factor인지, 아니면 빛과 관련하여 작용하는 activator 또는 repressor인지 앞으로 연구되어야 한다. 또한 광조절에 관여하는 다른 *trans-acting factor*가 존재하는지에 대해서도 밝혀야 한다.

유전자의 활성화, 전사후 조절, 해독 및 해독후 조절이 어느 정도로 일어나고 있으며, 어떤 분자기작에 의해서 일어나고 있는가? 이러한 의문들은 앞으로 흥미로운 연구 대상이 될 것이다.

## 맺음말

우리는 그동안의 오랜 연구과정을 통하여 광합성

과정과 그 기구에 대하여 많은 것을 알았다. Calvin-Benson 환을 알았으며 광계 I과 광계 II 반응중심의 분자모형을 완성하려 하고 있다. 이제 우리는 오랜 질문 앞에 새로이 서있다. 생명체는 빛을 어떻게 감지하고 어떻게 응답하는가? 우리는 비교적 단순한 현상에서부터 그 매듭을 풀어 나가야 할 것이다.

우리가 생명현상을 분자수준에서 이해하기 위해서는 유전학적 분석 방법과 생화학적 분석 방법을 동시에 사용하면서 접근하지 않으면 안된다. 이제까지의 광조절 현상에 대한 연구는 주로 생화학적 접근 방식에 의존하였다. 또한 분자유전학적인 연구도 개개의 피조절 유전자에 국한되어 왔다. 이것은 식물체에서는 돌연변이체를 이용한 유전학적 분석이 어렵다는데 부분적으로 기인한다.

이렇게 볼 때 세포구조가 간단하고, 식물성 광합성을 행하며, 종속영양으로도 성장할 수 있고, 또한 형질전환이 매우 잘 일어난다는 점에서 *Synechococcus*와 *Synechocystis*는 돌연변이체를 이용한 유전학적 연구에 매우 적합하다 하겠다.

## 참고문헌

1. Abdel-Mawgood, A.L., and R.A. Dille. 1990. Cloning and nucleotide sequence of the *psbH* gene from cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Plant Mol.Biol.* **14**: 445-446.
2. Anderson, L., and A. Grossman. 1990a. Genes for phycocyanin subunits in *Synechocystis* sp. strain PCC 6701 and assembly mutant UV16. *J. Bacteriol.* **172**: 1289-1296.
3. Anderson, L., and A. Grossman. 1990b. Structure and light-regulated expression of phycoerythrin genes in wild-type and phycobilisome assembly mutants of *Synechocystis* sp. strain PCC 6701. *J. Bacteriol.* **172**: 1297-1305.
4. Anderson, S.L., and L. McIntosh. 1991. Light-activated heterotrophic growth of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803: a blue-light-requiring process. *J. Bacteriol.* **173**: 2761-2767.
5. Armbrust, E.V., R.J. Bowen, R.J. Olson, and S.W. Chisholm. 1989. Effect of light on the cell cycle of a marine *Synechocystis* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 425-432.

6. Astier, C., K. Elmorjani, I. Meyer, F. Joset, and M. Herdman. 1984. Photosynthetic mutants of the cyanobacteria *Synechocystis* sp. strains PCC 6714 and PCC 6803: sodium p-hydroxymercuribenzoate as a selective agent. *J. Bacteriol.* **158**: 659-664.
7. Avissar, Y.J., and S.I. Beale. 1989. Identification of the enzymatic basis for -aminolevulinic acid auxotrophy in a *hemA* mutant of *E. coli*. *J. Bacteriol.* **171**: 2919-2924.
8. Bruce, W., A. Christensen, T. Klein, M. Fromm, and P. Quail. 1989. Photoregulation of a phytochrome gene promoter from oat transferred into rice by particle bombardment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 9692-9696.
19. Bustos, S., M. Schaefer, and S. Golden. 1990. Different and rapid responses of four cyanobacterial *psbA* transcripts to changes in light intensity. *J. Bacteriol.* **172**: 1998-2004.
10. Buzby, J.S., R.D. Porter, and S.E. Stevens. 1983. Plasmid transformation in *Agmenellum quadruplicatum* PR-6: construction of biphasic plasmids and characterization of their transformation properties. *J. Bacteriol.* **154**: 1446-1450.
11. Chen, M.W., D. Jahn, G.P. O'Neill, and D. Sill. 1990. Purification of the glutamyl-tRNA reductase from *Chlamydomonas reinhardtii* involved in -aminolevulinic acid formation during chlorophyll biosynthesis. *J. Biol. Chem.* **265**: 4058-4063.
12. Delaunay, A.-M., C. Huault, and A.P. Balang. 1991. Molecular cloning of the 5-aminolevulinic acid dehydratase gene from *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Bacteriol.* **173**: 2712-2715.
13. Essich, E., S.E. Stevens, and R.D. Porter. 1990. Chromosomal transformation in the cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum*. *J. Bacteriol.* **172**: 1916-1922.
14. Federspiel, N.A., and A.R. Grossman. 1990. Characterization of the light-regulated operon encoding the phycoerythrin-associated linker proteins from the cyanobacterium *Fremyella diplosiphon*. *J. Bacteriol.* **172**: 4072-4081.
15. Ferino, F., and F. Chauvat. 1989. A promoter probe vector-host system for the cyanobacterium, *Synechocystis* PCC6803. *Gene*, **84**: 257-266.
16. Ford, R.C., D. Picot, and R.M. Garavito. 1987. Crystallization of the photosystem I reaction centre. *EMBO J.* **6**: 1581-1586.
17. Golden, S., M. Nalty, and D.S. Cho. 1989. Genetic relationship of two highly studied *Synechococcus* strains designated *Anacystis nidulans*. *J. Bacteriol.* **171**: 24-29.
18. Green, P.J., M.H. Yong, M. Cuozzo, Y.K. Murakami, P. Silverstein, and N.H. Chua. 1988. Binding site requirements for pea nuclear protein factor GT-1 correlate with sequences required for light-dependent transcriptional activation of the *rbcS-3A* gene. *EMBO J.* **7**: 4035-4044.
19. Grimm, B., A. Bull, K.G. Welinder, S.P. Gough, and C.G. Kannangara. 1990. Purification and partial amino acid sequence of the glutamate 1-semialdehyde aminotransferase of barley and *Synechococcus*. *Carlsberg Res. Commun.* **54**: 67-79.
20. Hansson, M., L. Rutberg, I. Schröder, and L. Hederstedt. 1991. The *Bacillus subtilis* hemA-XCDBL gene cluster, which encodes enzymes of the biosynthetic pathway from glutamate to uroporphyrinogen III. *J. Bacteriol.* **173**: 2590-2599.
21. Herdman, M., S.F. Delaney, and N.G. Carr. 1980. Mutation of the cyanobacterium *Anacystis nidulans* (*Synechococcus* PCC 6301): improved conditions for the isolation of auxotrophs. *Arch. Microbiol.* **124**: 177-184.
22. Hershey, H.P., R. F. Barker, K.B. Idler, M.G. Murray, and P.H. Quail. 1987. Nucleotide sequence and characterization of a gene encoding the phytochrome polypeptide from *Avena*. *Gene*, **61**: 339-348.
23. Jones, A.M., and P.H. Quail. 1986. Quarternary structure of 124-kilodalton phytochrome from *Avena sativa* L. *Biochem.* **25**: 2987-2995.
24. Kreps, S., F. Ferino, C. Mosrin, J. Gerits, M. Mergeay, and P. Thuriaux. 1990. Conjugative transfer and autonomous replication of a promiscuous IncQ plasmid in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Mol. Gen. Genet.* **221**: 129-133.



25. Kuhlemeier, C., G. Strittmatter, K. Ward, and N.H. Chua. 1989. The pea *rbcS*-3A promoter mediates light responsiveness but not organ specificity. *Plant Cell*, 1: 471-478.
26. Kuhlemeier, C.J., W.E. Borrias, C.A.M.J.J. van den Hondel, and G. A. van Arkel. 1981. Vectors for cloning in cyanobacteria: construction and characterization of two recombinant plasmids capable of transformation to *Escherichia coli* K12 and *Anacystis nidulans* R2. *Mol. Gen. Genet.* **184**: 249-254.
27. Labarre, J., F. Chauvat, and P. Thuriaux. 1989. Insertional mutagenesis by random cloning of antibiotic resistance genes into the genome of the cyanobacterium *Synechocystis strain* PCC 6803. *J. Bacteriol.* **171**: 3449-3457.
28. Lam, E., M. Bedyk, and N.H. Chua. 1989. Characterization of phytochrome-regulated gene expression in a photoautotrophic cell suspension: possible role for calmodulin. *Mol. Cell. Biol.* **9**: 4819-4823.
29. Lang, J.D., and R. Haselkorn. 1991. A vector for analysis of promoters in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *J. Bacteriol.* **173**: 2729-2731.
30. Li, J.-M., O. Brathwaite, S.D. Cosloy, and C.S. Russell. 1989. 5-aminolevulinic acid synthesis in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **171**: 2547-2552.
31. Mattoo, A., J. Marder, and M. Edelman. 1989. Dynamics of the photosystem II reaction center. *Cell*, **56**: 121-246.
32. Mohamed, A., and C. Jansson. 1989. Influence of light on accumulation of photosynthesis-specific transcripts in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Plant Mol. Biol.* **13**: 693-700.
33. O'Neill, G.P., and D.S. II. 1990. Transfer RNA and the formation of the heme and chlorophyll precursor, 5-aminolevulinic acid. *BioFactors*, **2**: 227-235.
34. O'Neill, G.P., M.W. Chen, and D.S. II. 1989. - Aminolevulinic acid biosynthesis in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* involves formation of glutamyl-tRNA. *FEMS Microbiol. Lett.* **60**: 255-260.
35. Pakrasi, H., J. Williams, and C. Arntzen. 1988. Targeted mutagenesis of the *psbE* and *psbF* genes blocks photosynthetic electron transport: evidence for a functional role of cytochrome b559 in photosystem II. *EMBO J.* **7**: 325-332.
36. Reddy, K.J., K. Masamoto, D. Sherman, and L. Sherman. 1989. DNA sequence and regulation of the gene (*cbpA*) encoding the 42-kilodalton cytoplasmic membrane carotenoprotein of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7492. *J. Bacteriol.* **171**: 3486-3493.
37. Renger, M., P. Nixon, and B. Diner. 1990. Purification and characterization of photosystem I and photosystem II core complexes from wild-type and phycocyanin-deficient strains of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *J. Biol. Chem.* **265**: 6189-6196.
38. Romero, L.C., D. Sommer, L. Deforce, and P.-S. Song. 1990. Phytochrome-regulated G-protein in etiolated *Avena* seedling. submitted.
39. Sharrock, R., and P. Quail. 1989. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes Dev.* **3**: 1745-1757.
40. Verkamp, E., and R.K. Cheim. 1989. Isolation, nucleotide sequence, and preliminary characterization of the *Escherichia coli* K-12 *hemA* gene. *J. Bacteriol.* **171**: 4728-4735.
41. Wolk, C.P., A. Vonshak, P. Kehoe, and J. Elhal. 1984. Construction of shuttle vectors capable of conjugative transfer from *Escherichia coli* to nitrogen-fixing filamentous cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 1561-1565.