韓資植誌 Korean J.Plant Res. 18(3) 441~449(2005)

고려인삼 Chlorophyll a/b Binding Protein(*Cab*) 유전자의 동정 및 분자적인 특성분석

인준교, 이범수, 윤재호[1], 손화[2], 김세영[2], 양덕춘[2]*

(주)바이오피아 생명공학연구소, [1]순천대학교 농업생명과학대학, [2]경희대학교 한방재료가공학과

Molecular Characterization of a cDNA Encoding Chlorophyll a/b Binding Protein (*Cab*) from *Panax ginseng* C. A. Meyer

Jun Gyo In, Bum Soo Lee, Jae-Ho Youn[1], Hwa Son[2], Se Young Kim[2] and Deok Chun Yang[2]*

[1]Research Institute of Biotechnology, BioPia Co., Ltd, Yongin 449-598, Korea

Dept. of Oriental Medicine Material and Processing, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea

ABSTRACT

Photo system II (PSII) is one of the two photosynthetic reaction centers in the chloroplast of higher plants. The chlorophyll a/b-light harvesting complex serves primarily as an antenna for PSII. We isolated a cDNA that encodes a chlorophyll a/b-binding protein (*Cab*) from Panax ginseng. The small subunit consists of 935 nucleotides long and has an open reading frame of 795 bp with the deduced amino acid of 265 residues (pI 5.63), 28.6 kDa. The deduced amino acid sequence matched to the previously reported *Cab* genes. Their degree of amino acid identity ranged from 68 to 92%. Phylogenetic analysis based on the amino acid residues was showed that the ginseng *Cab* gene was grouped with *P. persica* (AAC34983), *A. thaliana* (AAD28771), *G. hirsutum* (CAA38025), *G. max* (AAL29886), and *V. radiata* (AAF89205).

Key words : chlorophyll a/b binding proteins, *Cab*, leaf, *Panax ginseng*

서론

틸라코이드막(thylakoid membranes)은 광계 I과 광계 II와 밀접한 관련이 있는 두 개의 광수확복합체 (light-harvesting complex, LHC I과 LHC II)를 포함하고 있다 (Thornber, 1986). LHC II복합체는 비공유적으로 결합하고 있는 chlorophyll a, chlorophyll b와 카로티노이드(carotenoid) 색소 등 소수의 단백질로 구성되어 있다. 이 색소와 단백질 복합체는 광계 II(PSII)의 반응중심(reaction center)에 흡수된 빛에너지를 전달한다. LHC II 복합체에서 주요한 폴리펩타이드는 chlorophyll a/b(*Cab*) 결합단백질이다.

*교신저자 : E-mail : leech@chungbuk.ac.kr

고등식물에서 광수확 chlorophyll a/b 단백질 복합체는 chloroplast에서 틸라코이드막의 주요한 구성성분이다. 광합성과정에서 이 복합체는 빛의 수용체로서 작용을 하고 여기된 에너지는 광계 I과 광계 II로 전이된다(Butler, 1978; Thornber, 1975). 광수확 *Cab* 단백질 복합체의 구성폴리펩타이드(AB polypeptides)는 핵내에 있는 DNA에 의하여 전사되고 세포질 리보솜에서 가용성 precursor로서 합성된다(Babiychuk *et al.*, 1995; Miller Kay, 1991). 이들 precursor 단백질들은 chloroplast로 이동되는데 이것은 NH2-terminal transit peptide에 의하여 촉진된다(Cashmore, 1984). 전이하는 동안 또는 그 후에 이들 precursor 단백질들은 성숙한 chlorophyll a와 chlorophyll b에 관련된 폴리펩타이드를 생산하기 위해서 단백질 가수분해에 의해서 분리된 후 틸라코이드 막에 결합하게 된다.

Cab 단백질 유전자들은 다양한 쌍자엽 식물(petunia, tomato, tobacco, *Arabidopsis*, pea, soybean)과 단자엽 식물(*Lemna*, maize, wheat, rice) 종에서 분리·분석되었다. 이들 연구 결과에 의하면 *Cab* 유전자들은 3에서 16개 정도의 유전자군으로 구성되어 있다고 한다(Dunsmuir 1985; Walling *et al.*, 1988). Walling *et al.*(1988)은 대두에서 *Cab* 유전자 발현이 배형성과정(embryogenesis)에서 증가한 후 감소하고 발아 후 자엽에 다시 축적된다고 하였다. 또한 *Cab* 유전자는 대두의 잎과 줄기에서는 높은 발현량을 보였는데 반하여 뿌리에서는 극히 낮은 수준이 관찰되었으며, *in vitro* 실험 결과에 의하면 *Cab* 유전자는 주로 전사수준에서 조절된다고 하였다.

고려인삼은 반 음지성 작물로서 해가림 구조 아래에서는 안정적으로 광합성을 하여 생육하지만, 30% 이상의 자연광에 노출되면 인삼의 잎에 도달하는 광량이 증가함에 따라 엽록소의 표백화(bleaching) 현상이 발생하여 잎이 말라죽는다. 이러한 현상은 고광도의 광에너지를 너무 많이 흡수함으로서 발생하는 기작으로 광 수확과 광에너지 전달 및 분배에 관여하는 엽록체의 LHCP와 매우 밀접한 관련성 있으며, 고광도의 광이 조사될 경우 너무 많은 광에너지가 흡수되어 광합성 과정에서 광반응계 전자전달기작의 과부하로 생성되는 singlet oxygen에 의해 엽록소 및 엽육세포가 파괴된다고 하였다(John *et al.*, 1995; Yang *et al.*, 1989; Yang, 1990; Yang *et al.*, 1990).

본 연구에서는 반음지성 식물인 인삼의 엽소현상을 분자적인 수준에서 이해하기 위해서 광에너지 흡수의 중추적인 역할을 수행하는 인삼의 *Cab* 유전자를 분리하고 그 특성을 비교·분석하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 실험에 사용한 재료는 (구)한국인삼연초연구원의 포장에 이식한 후 차광을 하여 4년간 생장시킨 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 천풍의 잎을 5월 중순에 채취한 후 무게를 측정하고 곧 바로 액체질소로 얼린 후 -80℃에 보관하여 사용하였다.

RNA추출과 cDNA library의 제작

액체질소로 얼려 보관한 인삼 천풍의 잎으로부터 aqueous phenol extraction 방법을 사용하여 total RNA를 추출하였다(Morris *et al.*, 1990). RNA 추출 전에 인삼의 잎조직은 유발에 액체질소를 첨가하면서 완전히 마쇄한 후 추출버퍼를 첨가하여 5분간 상온에 방치한 후 원심분리를 실시하였다. 추출한 total RNA로부터 poly(A)+ RNA는 poly(A) quick mRNA isolation kit(Stratagene, USA)를 사용하여 oligo(dT) cellulose column으로 정

제하였으며, cDNA 합성은 시판되고 있는 SMART cDNA library construction kit(Clontech, USA)을 사용하였다. Single-strand cDNA를 합성하기 위해서 2 ㎍의 정제한 poly (A)+ RNA를 사용하였고, 직접 cloning을 하기 위해서 3′말단에는 Xho I 제한효소를 가지고 있는 oligo (dT) primer를 사용하였다. Double-stranded cDNA는 RNase H로 poly (A)+ RNA를 제거한 후 E. coli DNA polymerase를 사용하여 합성하였다. PCR기기를 이용하여 primer extension 시켜 ds cDNA를 합성한 후 *Sfi* I효소로 절단하고 Chroma spin-400 column(Clontech)을 사용하여 크기별로 분획하였다. 500 bp 이상의 cDNA를 포함하고 있는 분획을 λ TriplEx2 vector(Clontech, USA)에 도입한 후 Gigapack III Gold Packaging Extract kit(Stratagene, USA)를 사용하여 packaging한 후 1차례 증폭하여 -80℃에 보관하면서 사용하였다.

Sequence 분석

인삼 천풍의 잎 조직으로 제작한 cDNA library에서 무작위로 3,000개의 EST clone을 선발하고 5′방향에서 염기서열분석을 실시한 후 NCBI의 blastx 프로그램을 이용하여 상동성 분석을 실시한 후 *Cab* 유전자에 상동성을 나타내는 clone을 선발하였다. 선발된 clone은 BM25.8 숙주를 이용하여 λTriplEx2 vector로 부터 pTriplEx2로 분리한 후 sequence 분석에 사용하였다. cDNA insert는 DNA sequencer (ABI prism 3700, USA)를 이용하여 5′과 3′ 양방향의 sequencing primer를 이용하여 전체의 염기서열을 분석하였다. Nucleotide와 아미노산 sequence 분석은 DNASIS 프로그램(Hitachi, Japan)을 사용하였다. NCBI에서 DNA와 단백질 database에서 rubisco 유전자의 기능 동정은 Altschul *et al.*(1990)의 blast algorithm에 따라서 수행하였다.

Sequence alignment와 계통분석

다른 식물체들에서 분리되어 유전자 은행(GeneBank, DDBJ, EMBL)에 등록된 *Cab* 단백질의 아미노산 서열의 비교 분석은 Clustal W (1.82)프로그램을 사용하였다(Thompson *et al.*, 1994). 이 결과를 바탕으로 UPGMA 법에 따라서 계통수(phylogenetic tree) 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

반음지성 식물인 인삼은 자연광에 노출되면 엽록소가 급격히 파괴되어 엽소현상이 발생하여 고사하게 된다. 그러나 차광망을 설치하여 자연광의 5-10% 정도의 저광도로 광을 투과시키면 광합성을 활발히 하여 안정적으로 생육을 하게 된다. 인삼은 고광도에 노출될 경우 과도한 빛에너지의 흡수로 광합성 과정에서 광반응계 전자전달기작의 과부하로 인하여 생성되는 singlet oxygen에 의해서 엽록소 및 엽육세포가 파괴된다.

본 연구에서는 인삼의 잎에서 발현되는 유전자의 발현양상을 분석하기 위해서 4년생 인삼의 잎으로부터 cDNA library를 제작한 후 무작위로 3,000개의 EST clone을 선발하였다. 각 clone들의 5′영역에서 sequening을 실시한 후 이들을 blast 프로그램을 이용하여 상동성 검색을 실시하였다. 이중에서 인 clhorophyll a/b-binding protein에 높은 상동성을 나타내는 clone(DC0502C06)을 선발하였다. 인삼의 잎 조직에서 분리한 *Cab* 유전자는 전장의 길이가 964 bp로, 5′non-coding 영역이 22 bp, 3′non-coding 영역이 115 bp로 구성되어 있었다(Fig. 1). 23번째 염기부터 ATG 코돈으로 시작되는 단백질 번역개시부위(open reading frame)는 818 bp번째의 TGA 코돈으로 종결되었고 29개의 poly A가 연결되어 있었다. 인

```
AAAGCAGCTTTCATCAATAAGCATGGCAACCTCAGCAATCCAACGGTCTGCATTCGCCGG   60
                        M  A  T  S  A  I  Q  R  S  A  F  A  G   13

CCAGACTGCTTTGAAGCCGCAGAATGAGCTGGTCAGGAAGATTGGCAGCTTGGGAGGTGG  120
 Q  T  A  L  K  P  Q  N  E  L  V  R  K  I  G  S  L  G  G  G   33

CCGCATCACCATGAGGCGTACCGTCAGAAGTGCTCCAGAGAGCATATGGTACGGACCTGA  180
 R  I  T  M  R  R  T  V  R  S  A  P  E  S  I  W  Y  G  P  D   53

CCGCCCAAAGTACTTGGGCCCATTCTCCGAGCAAACTCCATCATACCTGACCGGTGAATT  240
 R  P  K  Y  L  G  P  F  S  E  Q  T  P  S  Y  L  T  G  E  F   73

CCCTGGAGACTATGGGTGGGACACTGCTGGACTTTCAGCTGACCCAGAGACATTTGCCAA  300
 P  G  D  Y  G  W  D  T  A  G  L  S  A  D  P  E  T  F  A  K   93

GAACCGTGAGCTCGAAGTGATCCACAGCAGATGGGCCATGCTTGGTGCACTAGGCTGTGT  360
 N  R  E  L  E  V  I  H  S  R  W  A  M  L  G  A  L  G  C  V  113

CTTCCCTGAAATTCTTGCAAGGAATGGTGTCAAATTCGGCGAGGCAGTTTGGTTCAAGGC  420
 F  P  E  I  L  A  R  N  G  V  K  F  G  E  A  V  W  F  K  A  133

CGGAGCCCAAATCTTCTCCGAAGGTGGCCTTGACTATCTTGGCAACCCAAACCTTGTCCA  480
 G  A  Q  I  F  S  E  G  G  L  D  Y  L  G  N  P  N  L  V  H  153

TGCCCAGAGCATCCTGGCTATCTGGGCCAGCCAAGTTGTGCTCATGGGATTTGTGGAAGG  540
 A  Q  S  I  L  A  I  W  A  S  Q  V  V  L  M  G  F  V  E  G  173

ATACAGAGTTGGTGGAGGTCCACTTGGTGAAGGACTTGACAAAATTTACCCGGGAGGTTC  600
 Y  R  V  G  G  G  P  L  G  E  G  L  D  K  I  Y  P  G  G  S  193

TTTTGACCCACTTGGATTGGCTGATGATCCTGAAGCATTTGCTGAATTGAAGGTTAAGGA  660
 F  D  P  L  G  L  A  D  D  P  E  A  F  A  E  L  K  V  K  E  213

GCTTAAGAACGGACGATTGGCAATGTTTTCTATGTTTGGATTCTTTGTCCAGGCCATTGT  720
 L  K  N  G  R  L  A  M  F  S  M  F  G  F  F  V  Q  A  I  V  233

CACCGGAAAGGGCCCAATTGAGAACCTTTACGACCACCTTGCTGACCCAGTAGCCAACAA  780
 T  G  K  G  P  I  E  N  L  Y  D  H  L  A  D  P  V  A  N  N  253

TGCATGGGCTTATGCCACTAACTTTGTACCCGGAAAGTGAAACTATCAAATTCTCTTCTC  840
 A  W  A  Y  A  T  N  F  V  P  G  K  *                      265

TCTCGGCTGTAATATTAAACTTGTTTGGTGACATCCAACTTCTGTAATCTTTACCTGTTC  900
CCTCAAGTAATATAGCAAGCAGAGATGCTTATTTG                           935
```

Fig. 1. A cDNA and deduced amino acid sequences of *Cab* gene isolated from *Panax ginseng*. The positions of nucleotides are shown on the left and the positions of amino acids under the below. The asterisk is indicated the stop codon. The nucleotide sequence data reported will appear in the EMBL, GenBank and DDBJ Nucleotide Sequencing Database under the accession number AB236867.

삼 *Cab* 유전자는 265개의 아미노산으로 구성되어 있고 분자량은 28.6 kDa 정도 되는 것으로 추정되었다.

인삼에서 분리한 *Cab* 유전자의 특성을 조사하기 위해서 유전자 은행(DDBJ, EMBL, GenBank)에서 blast 검색을 통하여 높은 상동성을 나타내는 *Cab* 유전자와 이들의 단백질 아미노산 서열을 비교하였다. 그 결과 Rumex palustris로부터 분리된 *Cab* 유전자(AAD48017)는 264개의 아미노산으로 구성되어 있고 인삼의 *Cab* 유전자를 비롯하여 조사된 9개의 식물체에서는 265개의 아미노산으로 구성되어 있었다(Fig. 2).

인삼의 *Cab* 유전자와 다른 식물체에서 분리된 *Cab* 유전자들의 아미노산 서열의 상동성을 비교한 결과 *Petunia x hybrida*(CAA28639)와 *Prunus persica* (AAC34983)에서 분리된 *Cab* 단백질이 92.0%로 제일 높은 상동성을나타냈으며, *Nicotiana tabacum*(CAA41188), *Solanum tuberosum*(CAA84525), *Gossypium hirsutum* (CAA38025) 등이 91%, *Glycine max* (AAL 29886)과 *Rumex palustris* (AAD 48017)가 90%, *Arabidopsis thaliana* (AAD 28771)와*Vigna radiata* (AAF89205)는 89%로 비교적 낮은 상동성을 나타내었다.

인삼의 잎 조직에서 분리한 *Cab* 유전자와 다른 식물체들에서 분리되어 보고된 *Cab* 유전자들의 아미노산 서열을 이용하여 유연관계를 분석하여 본 결과, 크게 3 그룹으로 나누어 졌는데, 인삼은 *Prunus persica*, *Arabidopsis thaliana*, *Gossypium hirsutum*, *Glycine max*, *Vigna radiata*와 같은 그룹으로 분리되었고, *Solanum tuberosum*, *Petunia x hybrida*, *Nicotiana tabacum*이 동일한 그룹으로 분리되었으며, *Rumex palustris*만이 따로 분리되었다(Fig. 3).

인삼에서도 *Cab* 유전자가 유전자은행에 한 개 등록(AF034631)되어 있는데, 이 유전자는 266개의 아미노산으로 구성되어 있고 이중에서 transit peptide가 34개 정도 존재하는 것으로 추정된다. 이번에 인삼의 잎 조직에서 새로이 분리한 *Cab* 유전자(AB236867)는 265개의 아미노산으로 구성되어 있고 transit pepetide가 36개(1-36번째 아미노산) 존재하는 것으로 추정되며, AF034631 유전자와 전체의 아미노산 서열을 비교한 결과 78%의 상동성을 나타내었다. 그러나 transit peptide의 경우만을 따로 분리하여 비교한 경우 30%정도의 유사성을 보였다.

최근 Park 등(2001)은 담배 식물체에서 낮은 광도에서 광흡수 효율이 높아 빛 에너지를 효율적으로 화학에너지로 변환시킬 담배 식물체의 하위 잎의 광합성 효율을 좀 더 높이고자 고려인삼으로부터 에너지의 변환에 핵심적인 역할을 하고 있는 *Cab* 유전자(AF034631)를 담배에 도입하여 형질전환 식물체를 선발하여 생리적 특성을 조사한 바 있다. 인삼 *Cab* 유전자로 형질전환된 2세대 담배 식물체를 자연광 조건과 90% 차광된 온실에서 각각 생육시킨 결과 형진전환 식물체의 광합성능 정도가 정상 식물체와 유사하거나 약간 높은 경향이었으며, 광포화점은 형질전환 식물체나 정상 식물체에서 차이가 없었다고 하였다. Miller and Kay(1996)는 담배에 *Cab* 유전자를 형질전환시켜 광합성의 성능향상에 효과가 있다고 하였다.

식물에서 *Cab* 유전자는 광수확복합체(LHC)의 중요 구성성분으로 광수용체로서 광계에 여기된 에너지를 전달하는 중요한 역할을 수행한다. 인삼 식물체는 반음지성 식물로 진화하면서 독특하게 저광도의 광에너지를 효율적으로 화학에너지로 변환하는 능력을 획득한 것으로 보인다. 그러나 이러한 인삼의 생리적인 특성은 인삼을 재배하는데 있어서 고비용과 차광으로 인한 병원균의 증식 등의 원인을 제공하고 있다. 따라서 본 연구에서는 인삼의 광에 대한 분자생물학적인 반응을 연구하고자 우선 대표적인 광합성 관련 유전자인 *Cab* 유전자를 분리하였고 지속적으로 이들의 발현 및 기능에 대한 연구를 지속할 것이다.

```
Panax        MATSAIQRSAFAGQTALKPQNELVRKIGSLGGGRITMRRTVRSAPESIWYGPDRPKYLGP  60
Prunus       MATSAIQQSAFAGQTALKQSNELIRKIGGLGGGRITMRRTVKSTPQSIWYGPDRPKYLGP  60
Arabidopsis  MATSAIQQSSFAGQTALKPSNELLRKVGVSGGGRVTMRRTVKSTPQSIWYGPDRPKYLGP  60
Petunia      MATSAIQQSAFAGQTALKSQNELVRKIGSFGGGRATMRRTVKSAPQSIWYGEDRPKYLGP  60
Nicotiana    MATSAIEQSAFAGQTALKSQNELVRKIGSFNGGRATMRRTVKSAPQSIWYGEDRPKYLGP  60
Solanum      MATSAIQQSAFAGQTALKSQNEFIRKIGSFEGGRVTMRRTVKSAPQSIWYGEDRPKYLGP  60
Rumex        MAASGIQFSAIAGQTALKPQNELVRKVGG-NGGRFFMRRTVKSAPQSIWYGPDRPKYLGP  59
Glycine      MATSAIQQSAFAGQTALKQLNELVRKTGGAGKGRTTMRRTVKSAPQSIWYGPDRPKYLGP  60
Vigna        MATTAFQQSAFAGQTALKQVNEFVRKTGGSGKGRTNMRRTVKSAPQSIWYGPDRPKYLGP  60
Gossypium    MATSAIQQSAFAGQTALKQSNELVCKIGAVGGGRVSMRRTVKSAPTSIWYGPDRPKYLGP  60
             **::.:: *::******* **:: * *  ** *****:*:* ***** ********

Panax        FSEQTPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFAKNRELEVIHSRWAMLGALGCVFPEILAR 120
Prunus       FSEQTPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFAKNGELEVIHSRWAMLGALGCVFPEILSK 120
Arabidopsis  FSENTPSYLTGEYPGDYGWDTAGLSADPETFAKNRELEVIHSRWAMLGALGCTFPEILSK 120
Petunia      FSEQTPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFARNRELEVIHCRWAMLGALGCVFPEILSK 120
Nicotiana    FSEQTPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFARNRELEVIHCRWAMLGALGCVFPEILSK 120
Solanum      FSEQTPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFARNLELEVIHCRWAMLGALGCVFPEILSK 120
Rumex        FSEQTPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFARNRELEVIHSRWAMLGALGCVFPELLSK 119
Glycine      FSEQIPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFARNRELEVIHSRWAMLGALGCTFPEILEK 120
Vigna        FSDQIPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFARNRELEVIHSRWAMLGALGIVFPEILEK 120
Gossypium    FSDQIPSYLTGEFPGDYGWDTAGLSADPETFAKNRELEVIHCRWAMLGALGCVFPEILSK 120
             **:: *******:********************:* ******.********* .***:* :

Panax        NGVKFGEAVWFKAGAQIFSEGGLDYLGNPNLVHAQSILAIWASQVVLMGFVEGYRVGGGP 180
Prunus       NGVKFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLVHAQSILAIWAVQVVLMGFVEGYRVGGGP 180
Arabidopsis  NGVKFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLIHAQSILAIWAVQVVLMGFIEGYRIGGGP 180
Petunia      NGVTFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLIHAQSILAIWAAQVVLMGFVEGYRVGGGP 180
Nicotiana    NGVKFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLIHAQSILAVWASQVVLMGLIEGYRVGGGP 180
Solanum      NGVTFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLIHAQSILAIWASQVVLMGFVEGYRVGGGP 180
Rumex        NGVQFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLVHAQSILAIWACQVVLMGFVEGYRVGGGP 179
Glycine      NGVKFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLIHAQSILAIWAVQVVLMGFVEGYRVGGGP 180
Vigna        NGVKFGEAVWFKAGAQIFSEGGLDYLGNPNLIHAQSILAIWAVQVVLMGFVEGYRVGGGP 180
Gossypium    NGVKFGEAVWFKAGSQIFSEGGLDYLGNPNLIHAQSILAIWACQVVLMGFVEGYRVGGGP 180
             *** **********:****************:*******:** ******::****:****

Panax        LGEGLDKIYPGGSFDPLGLADDPEAFAELKVKELKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPIE 240
Prunus       LGEGLDPLYPGGAFDPLGLADDPEAFAELKVKELKNGRLAMTSMFGFFVQAIVTGKGPVE 240
Arabidopsis  LGEGLDPLYPGGAFDPLNLAEDPEAFSELKVKELKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPIE 240
Petunia      LGEGLDKIYPGGAFDPLGLADDPEAFAELKVKEIKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPIE 240
Nicotiana    LGEGLDKIYPGGAFDPLGLADDPEAFAELKVKEIKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPIE 240
Solanum      LGEGLDKTYPGGAFDPLGLADDPEAFAELKVKEIKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPIE 240
Rumex        LGEDLDKLYPGGAFDPLGLADDPEAFAELKVKELKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPVE 239
Glycine      LGEGLDPIYPGGAFDPLGLADDPDAFAELKVKELKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPIQ 240
Vigna        LGEGLDPIYPGGAFDPLGLADDPDAFAELKVKELKNGRLAMFSVFGFFVQAIVTGKGPIQ 240
Gossypium    LGEGLDPIYPGGAFDPLGLADDPDAFAELKVKEIKNGRLAMFSMFGFFVQAIVTGKGPIE 240
             ***.** :****:****.**:**:**:******:******* *:**************::

Panax        NLYDHLADPVANNAWAYATNFVPGK 265
Prunus       NLYDHVADPVANNAWAYATNFVPGK 265
Arabidopsis  NLFDHLADPVANNAWSYATNFVPGK 265
Petunia      NLYDHVADPVANNAWAFATNFVPGK 265
Nicotiana    NLFDHVADPVANNAWAYATNFVPGK 265
Solanum      NLSDHIADPVANNAWAYATNFVPGK 265
Rumex        NLVDHIADPVANNAWAYATNFVPGK 264
Glycine      NLYDHVADPVANNAWAYATNFVPGQ 265
Vigna        NLYDHVADPVANNAWAYATNFVPGQ 265
Gossypium    NLFDHLADPVANNAWAYATNFVPGK 265
             ** **:*********::*******:
```

Fig. 2. Alignments of Cab protein isolated from ginseng and other plants. The sequences of amino acid were aligned with the aid of the CLUSTAL W program. *Panax ginseng* (AB236867), *Petunia x hybrida* (CAA28639), *Prunus persica* (AAC34983), *Nicotiana tabacum* (CAA41188), *Solanum tuberosum* (CAA84525), *Gossypium hirsutum* (CAA38025), *Arabidopsis thaliana* (AAD28771), *Glycine max* (AAL29886), *Rumex palustris* (AAD48017), *Vigna radiata* (AAF89205).

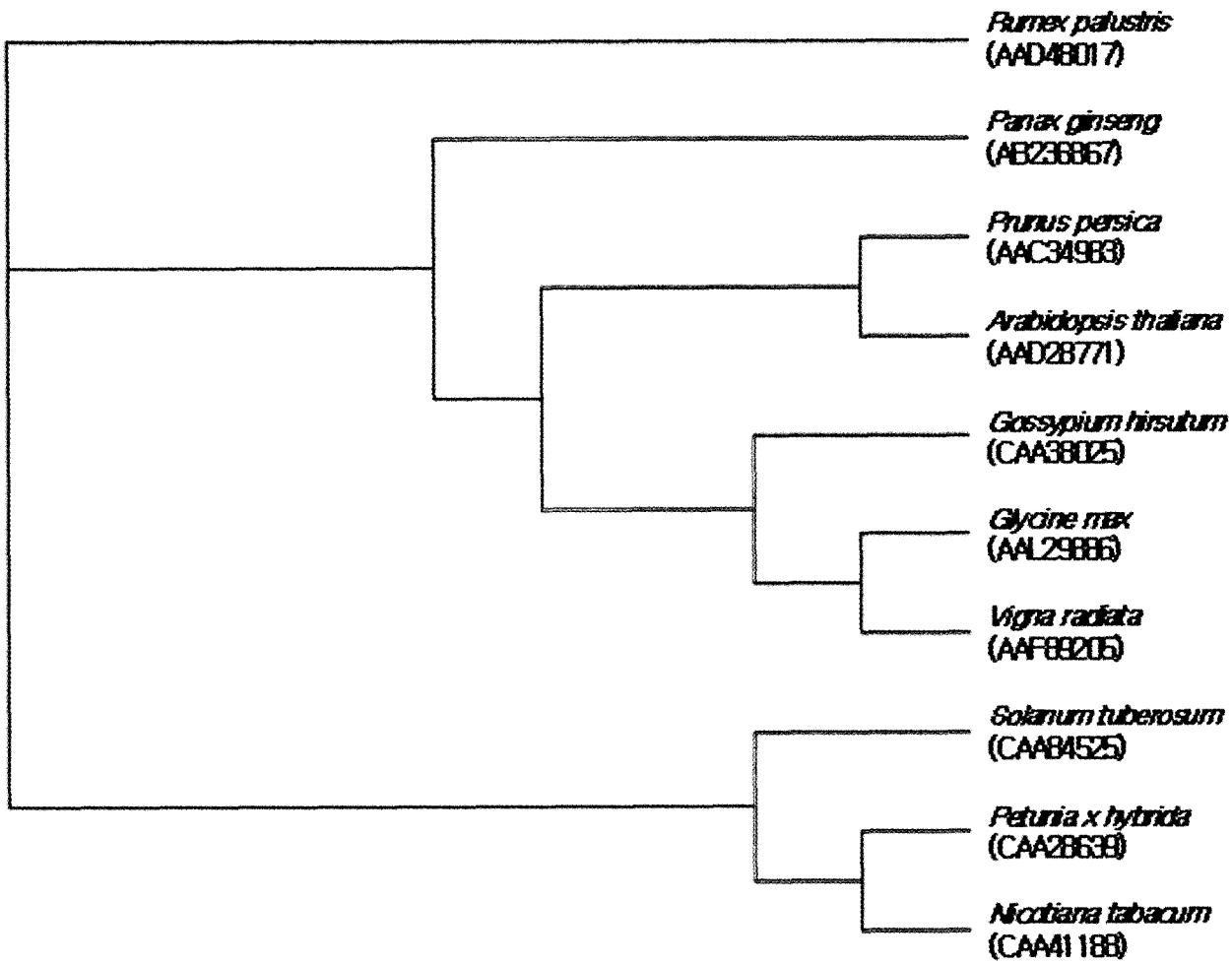

Fig. 3. Phylogenetic analysis of *Cab* proteins isolated from plants dased on amino acid sequences. The phylogenetic tree was reconstructed by UPGMA. The respective accesion number is described next to plant name. The cDNA sequences used for amino acid translation was retrieved from GenBank.

적요

광계II(PSII)는 고등식물의 chloroplast에서 두 개의 광합성 반응중심 중의 하나이다. Chlorophyll a/b 광수확 복합체는 광계II를 위한 안테나 역할을 수행한다. 본 연구에서는 인삼의 잎조직을 제작한 cDNA library로부터 chlorophyll a/b-binding protein(*Cab*) 유전자를 분리하였다. 인삼 *Cab*유전자는 935 bp의 염기와 265개의 아미노산 잔기(pI 5.63)로 구성된 한 개의 ORF를 포함하고 있으며, 단백질의 분자량은 28.6 kDa으로 추정되었다. 인삼에서 분리한 *Cab* 유전자는 기존에 식물에서 보고된 유전자들과 유사성을 나타내었으며, 유사도는 68 - 92%로 나타났다. 아미노산 서열을 비교하여 유연관계를 분석한 결과 인삼의 *Cab* 유

전자는 비교된 *P. persica* (AAC34983), *A. thaliana* (AAD28771), *G. hirsutum* (CAA38025), *G. max* (AAL29886), *V. radiata* (AAF89205) 등과 동일한 그룹으로 분리되었다.

사사

본 연구는 농림기술개발과제(ARPC)의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 대해 심심한 감사를 표하는 바이다.

인용문헌

Altschul, S.F., W. Gish , W. Miller, E.W. Myers and D.J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 215:403-410.

Babiychuk, E., R.S. Chantz, N. Cherep, J.H. Weil, Y. Gleband and S. Kushnir. 1995. Alterations in chlorophyII a/b binding proteins in *Solanaceae cybrids*. Mol. Gen. Genet. 249:648-654.

Butler, W.L. 1978. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. Annu. Rev. Plant Physiol. 29:345-378.

Cashmore, A.R. 1984. Structure and expression of a pea nuclear gene encoding a chlorophyll a/b-binding polypeptide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:2960-2964.

Dunsmuir, P. 1985. The petunia chlorophyll a/b binding protein genes: a comparison of *Cab* genes from different gene families. Nuc. Acids Res. 13:2503-2518.

Millar, A.J. and S.A. Kay. 1991. Circadian control of *Cab* gene transcription and mRNA accumulation in Arabidopsis. The Plant Cell 3: 541-550.

Millar, A.J. and S.A. Kay. 1996. Integration of circadian and phototransduction pathways in the network controlling *Cab* gene transcription in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 15491-15496.

Morris, P.C., A. Kumar, D.J. Bowles and A.C. Cuming. 1990. Osmotic stress and abscisic acid regulate the expression of the *Em* gene of wheat. Eur. J. Biochem. 190:625-630.

Park, S.W., S.W. Lee, Y.G. Kand, S.W. Lee, C.H. Lee, J.C. Lee and S.Y. Choi. 2001. Expression of *Cab* (chlorophyll a/b binding protein) gene in transformed plants. Korean J. Plant Tiss. Cult. 28:41-45.

Thompson, J.D., D.G. Higgins and T.J. Gilbson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-secific gap penalties and weight matrixchoice. Nucleic Acids Res. 22:4673-4680.

Thornber, J.P. 1975. Chlorophyll-proteins: light harvesting and reaction center components of plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 26:127-158.

Thornber, J.P. 1986. In Staehlelin, L.A. and Arnzten, C.J. (eds), Encycl. Plant Physiol. New Series, Vol. 43, Photosynthesis III: Photosynthetic Membranes, Berlin, springer-Verlag, pp. 98-142.

Walling, L.L., Y.C. Chang, D.S. Demmin and F.M. Holzer. 1988. Isolation, characterization and evolutionary relatedness of three members from the soybean multigene family encoding chlorophyll a/b binding proteins. Nuc. Acids Res. 16:10477-10492.

Walling, L., G.N. Drews and R.B. Goldberg. 1988. Transcriptional and post-transcriptional regulation of soybean seed protein mRNA levels. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:2123-2127.

Yang, D.C. 1990. Lipid peroxidation of ginseng thylakoid membrane. Korean J. Ginseng Sci. 14:135-141.

Yang, D.C., Q. Chae, S.J. Lee, Y.H. Kim and Y.H. Kang. 1990. Effects of light and photosynthetic electron transport system on the generation of singlet oxygen (1O2) in ginseng thylakoid membrane.

Korean J. Ginseng Sci. 14:57-62.

Yang, D.C., M.W. Kim, Q. Chae and M.S. Kim. 1989. Effects of active oxygen species (1O2, O2-, H2O2) and scavengers on the chlorophyll bleachin of leaf-burning disease from *Panax ginseng* C.A. Meyer. Korean J. Ginseng Sci. 13:98-104.

(접수일 2005. 1. 20)
(수락일 2005. 2. 25)