

## 생체고분자 단백질 및 RNA의 세포간 이동 조절

문주연<sup>1</sup>, 정진혁<sup>1</sup>, 임영길<sup>1</sup>, Raju Datla<sup>2</sup>, Alain Joliot<sup>3</sup>, David Jackson<sup>4</sup>, 김재연<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 응용생명과학부, 식물분자생물학 및 유전자조작연구센터, 환경생명과학 국가핵심연구센터,  
<sup>2</sup>캐나다 국립연구원 식물생명공학연구소, <sup>3</sup>프랑스 ENS 그랑제콜, <sup>4</sup>미국 콜드스프링하버 실험실

## Regulation of Intercellular Protein and RNA Movement

Juyeon Moon<sup>1</sup>, Jin-Hee Jung<sup>1</sup>, Yeonggil Rim<sup>1</sup>, Raju Datla<sup>2</sup>, Alain Joliot<sup>3</sup>, David Jackson<sup>4</sup>, and Jae-Yean Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Applied Life Science, PMPPRC, EB-NCRC, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>2</sup>Plant Biotechnology Institute, National Research Council of Canada, Saskatoon, SK, S7N 0W9, Canada

<sup>3</sup>Biologie Cellulaire des homeoproteines, CNRS UMR8542 Ecole Normale Supérieure, Paris F-75005, France

<sup>4</sup>Plant Genetic Group, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY11724, USA

**ABSTRACT** Intercellular signaling is a crucial biological process for the coordination of cell differentiation, organ development and whole plant physiology. The intercellular movement of macromolecule signals such as proteins and RNAs has emerged as a novel mechanism of cell-to-cell communication in plant. Plasmodesmata, which are intercellular symplasmic channels, provide a key pathway for cell-to-cell trafficking of regulatory proteins / RNAs. This review specifically focuses on integrating the recent understanding on non-cell autonomous macromolecules, their function and regulatory mechanisms of intercellular trafficking through plasmodesmata.

### 서 론

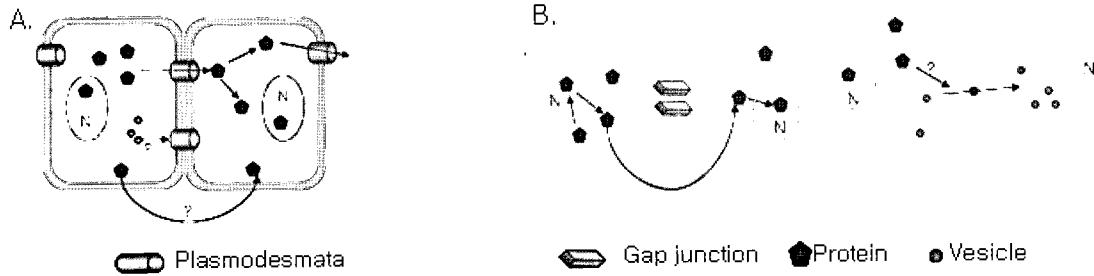
현재 생물학에서 주요한 관심거리 중의 하나는 다세포 고등생물의 세포나 조직이 어떻게 그들의 운명을 결정하는 가이다. 이것은 최근 세포간 정보교환에 의해 이루어진다고 알려졌다 (Poethig 1987, Dawe and Freeling 1991, Huala and Sussex 1993). 세포 사이의 정보교환은 이웃하는 세포와 정보교환을 통해 자신의 위치와 운명을 결정하는 수단이 되는데 이는 특정 세포가 어떤 위치에 존재하는지 혹은 서로 상호작용하는 세포의 종류에 따라 그 세포의 운명이 결정됨을 보여준다. 세포의 운명 결정에 필수적인 세포간 정보교환의 새로운 메커니즘으로서 플라즈모데스마타 (plasmodesmata) 를 통한 전사조절 단백질이나 그 RNA의 이동이 새로운 세포간 정보교환의 기작이며 식물세포의 발달에서 필수적인 요소임이 보고되었다 (Lucas et al. 1995, Perbal et al. 1996,

Jackson and Hake 1997, Kuhn et al. 1997, Kim et al. 2001, Nakajima et al. 2001).

동·식물 세포간의 정보교환을 위한 가장 전형적인 방식은 apoplastic 경로와 symplasmic 경로를 통해 일어난다. apoplastic 정보교환은 화학물질이나 펩타이드 등의 신호인자가 세포 밖으로 분비되고 이 신호인자가 이웃 또는 멀리 떨어진 세포의 리셉터 단백질에 인지되거나 또는 생체막을 직접 통과하는 방식으로 일어난다. 대표적인 예로서 여러 스테로이드 호르몬 및 펩타이드 리간드 신호인자가 관여하는 신호작용을 들 수 있다. symplasmic 정보교환은 신호인자가 세포막 밖으로 나가지 않고 직접 세포질의 연결된 관을 통해 일어난다. 이 예로서 동물세포에서는 gap junction이나 tunneled nanotube (TNT)를 통한 정보이동이 있고 (Figure 1B) 식물세포에서는 식물세포 특유의 플라즈모데스마타를 통한 정보교환 방식이 있다 (Figure 1A).

본 논문에서는 생체고분자 단백질 및 RNA의 세포간 이동기작과 그 생물학적인 중요성에 대한 최근의 연구결과를 고찰해보고자 한다.

\*Corresponding author Tel 055-751-6253 Fax 055-759-9363  
E-mail: kimjy@gnu.ac.kr



**Figure 1.** Cell-to-cell movement of macromolecular signals in plant and animal cells. A. In plant, movement of non-cell autonomous proteins most probably occurs symplasmically via PD. Protein movement via secretion/internalization mechanism or vesicle movement through PD has not yet been proven and is shown with question marks. B. Symplasmic exchange of molecules in animal cells occurs via gap junctions (left panel) or TNT (right panel). Intercellular protein trafficking in animal cell culture occurs through an unconventional secretion-internalization pathway. Recently, actin-based TNT similar to PD were found and thought to be a novel cell-to-cell communication pathway in animal cells. TNTs facilitate the transport of vesicles or membrane-linked proteins. Vesicle-bound or soluble HD proteins are hypothesized to use the nanotubular pathway (indicated with question mark). Modified from (Kim et al. 2005b).

### 세포 비자율적인 단백질과 RNA

세포 비자율적인 단백질 (non-cell autonomous protein)은 식물 세포간에 이동할 수 있는 단백질들을 총체적으로 일컫는 말이며 (Lee et al. 2003), 세포 비자율적인 단백질은 크게 세 그룹 (바이러스 단백질, 전사조절 단백질, 체관액 단백질)으로 나눌 수 있다. 이 중 가장 잘 알려진 바이러스 단백질은 MOVEMENT PROTEIN (MP)으로 이 단백질은 플라스모데스마타를 통해 그 자신이 이동할 뿐만 아니라 플라스모데스마타와 상호작용을 통해 채널 크기를 증가시키고 RNA와 결합하여 단백질-RNA 복합체 형태로 플라스모데스마타를 통과할 수 있는 능력을 가지고 있다 (Deom et al. 1987, Wolf et al. 1989, Waigmann et al. 1994).

두 번째 그룹인 전사조절 단백질은 유전자의 발현 조절작용을 수행하는 단백질로, 그 예로서 세포간에 이동할 수 있다고 최초로 알려진 식물 단백질인 KNOTTED1 (KN1)이 있다 (Lucas et al. 1995, Kim et al. 2002). KN1은 옥수수 싹의 정단 분열조직 (Shoot apical meristem)의 유지에 관여하는 호메오도메인 단백질로 잘 알려져 있고, KN1의 애기장대 상동체인 KN1-related protein in *Arabidopsis thaliana* (KNAT1)과 SHOOT MERISTEMLESS (STM) 역시 애기장대의 정단분열조직에서 이동할 수 있다 (Kim et al. 2003). 또한 개화조절 및 뿌리 발달에 관여하는 LEAFY (LFY), DEFICIENS, GLOBOSA, CAPRICE 및 SHORT ROOT (SHR) 역시 세포간 이동능력을 가지고 있다 (Perbal et al. 1996, Kragler et al. 1998, Sessions et al. 2000, Nakajima et al. 2001, Wada et al. 2002). 이 같은 전사조절 단백질은 하나 또는 몇몇 세포층을 이동하므로 단거리 신호로 작용한다고 알려져 있다.

마지막으로 체관 체요소 (sieve elements)내 체관액에서 발견되는 단백질이 있다 (Ruiz-Medrano et al. 1999, van Bel et al. 2002, Walz et al. 2004). 체관 체요소는 발달단계에서 핵을 상실하므로 RNA 및 단백질을 만들 수 없다. 그러므로 체요소 체관액에서 발견된 생체고분자 단백질과 RNA는 이웃의 반세포 (companion cells)에서 유입되었다고 생각된다. 이들 중에서 CmPP16, CmHSC70, Thioredoxin h 등의 체관단백질은 플라스모데스마타 채널의 크기를 조절하는 능력을 갖고 있다. 이러한 체관 단백질 및 RNA들은 체요소의 유지에 관여하거나 혹은 체관을 따라 이동하여 장거리 신호의 기능을 가질 것으로 예상되지만 실질적인 그들의 기능은 거의 알려지지 않았다.

### 플라스모데스마타의 구성 및 조절인자

플라스모데스마타는 세포간 생체고분자 이동에 중요한 식물 특유의 symplasmic 경로로 작용한다. 그러나 플라스모데스마타의 구조적, 기능적인 구성인자의 분리 및 동정은 식물학 연구 분야에서 지금까지 주요한 과제로 남아있다. 현재, 플라스모데스마타 채널 안이나 그 주변에 위치한다고 알려진 10여 개의 단백질들이 보고되었다. 이 단백질들은 callose degrading enzymes, pectin methylesterase, actin, myosin, centrin, calreticulin, calcium-dependent/independent protein kinases와 몇몇의 아직 기능이 미확인된 단백질들이다. 여기서 주목할 만한 것은 actin과 myosin인데, 칼슘이 플라스모데스마타의 채널 개폐를 조절한다고 알려졌기 때문에 세포 비자율적 단백질의 이동은 actin-myosin 작용기구의 calcium-dependent 인산화를 통해 조절될 것으로 보고되었다 (Oparka 2004).

최근에 플라스모데스마타에 존재하는 단백질을 탐색, 분

리하기 위해 viral vector를 이용하여 형광단백질 (Green Fluorescence Protein, GFP)이 융합된 단백질 library의 일시적인 발현 후 공초점 형광현미경을 사용하여 탐색하는 방법을 통해 Rab GTPase를 포함하여 11개의 단백질이 분리되었다 (Escobar et al. 2003). Rab 단백질의 발견은 PD로 단백질의 이동과 세포외배출(exocytosis)과 관련성을 암시하지만, 분리된 단백질의 플라스모데스마타와 관련된 기능에 대해 아직은 알려진 것이 없다. 동일 접근법을 사용한 단백질의 대량탐색과 탐색된 단백질의 기능 규명연구는 식물세포간 정보교환 채널인 플라스모데스마타의 신비를 밝히는 데 중요한 역할을 할 것으로 기대된다.

유전학적인 접근방법 역시 플라스모데스마타의 구조 및 기능조절 인자의 탐색이 가능하다는 것을 시사해 주고 있다. 애기장대 배아의 torpedo 단계에서 10 kDa 형광색소의 symplasmic 경로를 통한 이동이 증가된 돌연변이의 분석을 통해 얻어진 INCREASED SIZE EXCLUSION LIMIT OF PLASMODRSMATA 1 (ISE1)은 배아형성 동안 플라스모데스마타의 채널 조절에 관여한다 (Kim et al. 2002). ISE1은 DEAD-box RNA helicase 그룹의 하나로 GFP와 융합되어 세포내에서 발현될 때 플라스모데스마타에 위치하는 바이러스 MP와 같은 위치에 존재한다 (P Zambryski, I Kim, personal communication). *isel* 돌연변이에서 플라스모데스마타의 구조를 분석하였으나 어떤 상이점을 발견할 수 없고 또한 몇몇 바이러스에서 helicase domain 단백질은 세포간 바이러스 이동에 중요하다고 알려져 있기 때문에 ISE1은 플라스모데스마타의 구조적인 인자이기 보다 조절기능을 갖는 인자로 추정된다.

최근 플라스모데스마타가 풍부하게 존재하는 세포벽을 이용한 high-throughput proteomics 접근법이 시도되어 많은 후보 단백질들이 나오고 있다. 다른 세 연구그룹에 의해 행해진 proteomics 연구를 통해 공통적으로 나온 플라스모데스마타에 위치하는 단백질중 하나인 REVERSIBLY GLYCOSYLATED POLYPEPTIDE2은 기존에 Golgi와 연관되어 있다고 알려졌다 (Faulkner et al. 2005). 이는 endoplasmic reticulum이 플라스모데스마타를 통과한다고 알려진 것과 상관관계가 있을 것으로 추정된다.

하지만 플라스모데스마타에 위치하는 점점 많은 단백질이 알려지고 있음에도 불구하고, 정확한 플라스모데스마타의 구조 및 조절인자의 완전한 네트워크 규명까지 가야 할 길은 아직도 멀다고 할 수 있다. 세포간 채널인 플라스모데스마타와 유사한 물리적인 크기와 생체고분자의 이동능력을 나타내는 핵공의 경우 100여개의 다른 단백질로 구성된 약 120 MDa의 거대 복합체를 형성하고 있다 (Lee et al. 2000). 그러므로 플라스모데스마타 역시 유사한 복잡성을 가질 것으로 예상되고 이

러한 플라스모데스마타의 구조 및 조절인자의 네트워크 규명을 위해서는 유전학적, 생화학적 및 genomics, proteomics 등의 총체적인 접근방법이 필요할 것이다.

### 플라스모데스마타를 통한 단백질 이동의 기작

플라스모데스마타를 통한 생체고분자 단백질의 이동은 선택적 또는 비선택적인 이동방식에 의해 이루어진다. 선택적인 이동은 세포내 인자들과 세포 비자율적 단백질의 신호 motif 사이에 특이한 상호작용을 가지면서 일반적으로 플라스모데스마타 채널의 크기를 증가시킨다. 반면에, 비선택적인 단백질 이동은 농도 구배에 근거한 확산이동으로 생체내 플라스모데스마타의 자연적인 채널 크기에 따라 제한된다.

선택적인 이동에 관한 가장 잘 연구된 경우는 플라스모데스마타 개폐 기능을 갖는 바이러스 MP의 이동에서 볼 수 있다 (Waigmann et al. 1994). 바이러스 MP는 chaperones, cytoskeleton, pectin methylesterase 외에도 다양한 핵 단백질과 상호작용한다. 세포간 MP의 이동에 있어 microtubule의 역할에 대해서는 상반 (positive / negative effect)되는 견해가 존재하지만 (Mas and Beachy 2000, Gillespie et al. 2002), MP의 세포간 이동에서 actin-myosin 작용기구는 viral replication complex의 이동에서 중요한 역할을 수행한다고 보고되었다 (Kawakami et al. 2004). MP와 DNAJ-like chaperone과의 상호작용은 플라스모데스마타를 통한 MP나 다른 세포 비자율적 단백질의 이동시 일어날 수 있는 unfolding에서 chaperone의 역할이 필요하다는 사실을 보여 준다 (Soellick et al. 2000). 유사하게 Beet Yellow Virus의 HSP70 상동체가 바이러스의 이동에 필수적이고 플라스모데스마타의 채널 크기에 관여하는 조절자라는 사실이 알려졌다 (Aoki et al. 2002, Peremyslov and Dolja 2002). MP의 이동은 인산화에 의해, 또는 다양한 단백질 (예, microtubule-associated protein MBP2c, leucin-zipper homeodomain protein FHi22, pectin methyl esterase)과 상호작용에 의해 조절될 수 있다 (Waigmann et al. 2000, Desvoyes et al. 2002, Kragler et al. 2003, Chen et al. 2000, Mas and Beachy 2000, Gillespie et al. 2002). 최근 BY-2 세포의 세포벽에서 담배 모자이크 바이러스 MP를 인산화 시키는 CASEIN KINASE I 그룹에 속하는 잠재적인 플라스모데스마타 protein kinase의 분리가 보고되었다 (Lee et al. 2005). 식물전사인자인 SHR의 경우 인산화가 세포간 단백질이동에 필요하다는 사실이 보고되었다. 인산화가 일어나는 threonine 이 isoleucine으로 치환된 돌연변이 단백질 SHR (T>I)은 pericycle 세포에 발현되면 정상 단백질과 달리 세포질에서 만 발견되지만 세포간 이동은 할 수 없

다. 이는 SHR 단백질이 확산에 근거한 비선택적인 이동을 하지 않고 선택적으로 그 이동이 조절된다는 사실을 보여 준다 (Gallagher et al. 2004).

호박 (*Cucurbita maxima*) 체관단백질인 MP-related protein CmPP16은 바이러스 MP와 같이 세포간에 이동능력을 갖고 플라스모데스마타를 통해 RNA와 복합체를 형성해 이동할 수 있다고 밝혀졌다. 이는 MP의 이동이 식물단백질의 이동 경로를 사용함을 제안한다 (Xoconostle-Cazares et al. 1999). 최근 호박으로부터 CmPP16과 상호작용하는 플라스모데스마타의 이동 네트워크의 단백질인 NON-CELL AUTONOMOUS PATHWAY PROTEIN 1 (NCAPP1)이 분리되었다 (Lee et al. 2003). NCAPP1은 플라스모데스마타에 그것의 수송물을 전달하기 위해 endoplasmic reticulum 막을 타고 움직이는 이동 수용체로서의 기능을 한다. 흥미롭게도 NCAPP1은 핵의 주변부에 위치하며 핵단백질의 이동에 중요한 역할을 수행할 것으로 예상되는 GP40단백질과 상동성을 보인다. 이 같은 발견은 플라스모데스마타를 통한 고분자물질의 이동이 핵공을 통한 nucleocytoplasmic trafficking과 작용 기작면에서 유사성을 보인다는 사실을 보여준다. NCAPP1의 dominant negative mutant 단백질을 과량 생산하는 형질전환식물은 기관의 비대칭화, 기관의 융합, 잎 표피세포의 뒤바뀐 운명 등의 표현형을 보임으로서 NCAPP1 관련 단백질의 이동이 기관의 발달 과정에서 중요한 역할을 한다는 사실을 보여준다. NCAPP1의 mutant version은 CmPP16과 담배 바이러스 MP의 플라스모데스마타 채널 개폐기능을 저해하고 역시 그 세포간 이동능력을 억제한다. 하지만 이러한 효과는 특정 단백질에 특이하게 나타날뿐, 옥수수 호메오도메인 단백질인 KN1의 플라스모데스마타의 개폐 기능을 저해하지는 않는다. 이 같은 결과는 선택적인 단백질 이동경로의 존재를 보여줌과 동시에 플라스모데스마타를 통한 단백질 이동이 다중 이동기작의 네트워크로 구성됨을 나타낸다. 또한 세포간 단백질 이동에서 플라스모데스마타로의 vesicle targeting이 중요한 역할을 수행할 것으로 생각되는 증거들이 계속적으로 보고되고 있다. 그 예로서 vesicle의 targeting에 관여하는 Rab 단백질이 플라스모데스마타에서 발견되었으며 또한 바이러스의 MP와 endocytic machinery에 관련된 receptor-mediated endocytosis (RME-8)의 상호작용 등이 이러한 점을 시사한다 (Faulkner et al. 2005).

세포 비자율적 단백질의 세포간 선택적이고 능동적인 이동이 제안된 이래 선택적인 단백질 이동신호의 분리를 위해 많은 시도가 이루어졌다. 벼의 thioredoxin h와 바이러스 MP를 가지고 수행한 연구결과들은 살펴보면 이동신호는 3차원 구조 정보이거나 혹은 일차 아미노산 서열과 3차 구조의 결

합체일 수 있음이 제안되었다. 담배 바이러스 MP를 사용한 연구는 C-terminal에 99개의 아미노산으로 구성된 도메인이 플라스모데스마타의 채널 개폐 활성을 위해 필요하다는 사실을 보였다 (Giesman-Cookmeyer and Lommel 1993, Waigmann et al. 1994, Ishiwatari et al. 1998). CmHSP70을 이용한 연구는 약 25개의 아미노산으로 구성된 펩타이드 motif (SVR motif)가 잠재적인 세포간 단백질 이동신호로 작용함을 보였다. 그러나 이 SVR motif는 이중 단백질과 융합될 때 효과를 나타내지 못하고 단지 HSP70 chaperone machinery 내에서만 작용하였다 (Aoki et al. 2002). 최근 우리는 *in vivo* 단백질 이동분석법인 trichome rescue assay를 이용하여 KN1에서 세포간 단백질의 이동에 필요한 신호를 분리하였다 (Kim et al. 2005a). 세포자율적인 GLABROUS1 (GL1) 단백질을 *gll* 돌연변이의 메소필 세포에 발현시켰을 때는 trichome rescue가 일어나지 않았으나 GL1 단백질에 KN1의 호메오도메인을 융합시켜 메소필 세포에서 발현시키면 세포간 융합단백질의 이동이 일어나서 trichome rescue를 보였다. 도메인 삭제실험을 통해 우리는 KN1 단백질의 이동에 필요·충분한 이동신호는 호메오도메인에 위치한다는 사실을 규명하였다.

패밀리 단백질을 제외하면 현재까지 알려진 선택적으로 세포간 이동능력을 갖는 단백질들 사이에 아미노산 서열 및 도메인에서 상동성을 찾기가 어렵기 때문에 다양한 세포 비자율적인 단백질에 대해 다중의 이동 메커니즘이 존재할 것으로 예측할 수 있다.

선택적인 단백질이동 외에 식물세포는 농도 구배에 따른 확산방식을 통해 단백질을 교환할 수 있다. Microinjection이나 전자현미경을 사용한 앞선 연구들은 플라스모데스마타가 1 kDa 정도의 구형 단백질이 통과할 수 있는 채널 크기를 갖는다고 보고하였다. 그러나 식물세포에 발현된 외부 단백질인 26 kDa GFP의 세포간 이동은 비선택적 기작인 농도 구배에 따른 확산을 통해 일어나며 플라스모데스마타의 채널 크기의 역동적인 조절을 보여주었다 (Imlau et al. 1999, Oparka et al. 1999, Martens et al. 2004).

최근 개화를 조절하는 전사 조절인자인 LFY 또한 비선택적인 확산에 의해 이동될 수 있다는 사실이 보여졌다 (Wu et al. 2003). 이를 뒷받침하는 증거로 비선택적인 경로를 사용하여 이동할 수 있는 GFP 단백질에서 보여진 것처럼 LFY의 세포내 소기관 사이에 분포는 그 이동 효율과 상관관계를 보인다. 세포간의 채널을 통한 이동을 전제할 때 세포질에 존재하는 단백질은 이동경로에 들어갈 수 있는 반면 핵과 같은 다른 세포내 소기관에 위치하는 단백질들은 이동경로에 들어가기 위해서는 먼저 세포질로 나가야 한다. GFP-LFY의 발현과 그

세포내 위치 그리고 세포간 이동 정도를 비교하면 세포질에서 GFP-LFY의 농도와 이동능력 사이에 강한 상관관계가 존재함을 발견할 수 있었다. 또한 LFY의 deletion fragment와 GFP 사이에 다양한 융합단백질을 가지고 세포간 이동능력을 조사하면 모든 LFY deletion들은 여전히 세포간 이동능력을 유지한다. 이것은 LFY가 다중의 세포간 단백질 이동신호를 갖는다는 가능성을 제외하면 어떤 특이한 세포간 단백질 이동신호를 필요로 하지 않는 비선택적인 확산을 통해 이동한다는 사실을 보여준다. 이 결과를 바탕으로 Wu 등 (Wu et al., 2003)은 세포질내 작은 단백질들이 특정 세포 소기관에 단백질을 위치시킨다든가 아니면 고분자의 복합체를 만드는 형태의 보유기작이 없는 경우 확산에 의해 다른 세포로 이동이 일어날 수 있다는 가설을 제시하였다. 하지만 확산에 근거한 비선택적인 단백질이동 역시 조직이나 플라스모데스마타 특유의 방식으로 조절되는 것 같다. 예를 들면 GFP-LFY는 정단 분열 조직내 다른 세포층간에 활발하게 이동하는 반면 같은 세포층내의 이동은 다소 제한되었다. 또한 LFY-GFP는 floral meristem으로부터 inflorescence meristem으로 이동할 수 없었다. 이 같은 연구결과는 어떤 플라스모데스마타는 LFY의 자유로운 확산을 허용하지 않는다는 사실과 LFY 이동이 floral meristem안의 symplasmic 도메인 내에서만 특이하게 일어날 뿐 그 경계선을 넘지 않는 사실을 보여 준다 (Sessions et al. 2000). 그러므로 식물세포는 선택적인 단백질의 이동뿐만 아니라 비선택적인 이동 역시 식물의 조직 및 발달 단계에 따라 정교하게 조절할 수 있는 기작을 가지고 고유한 기능을 갖는 symplasmic 기능도메인을 유지하는 것으로 보인다.

#### 플라스모데스마타를 통한 핵산의 이동 및 조절

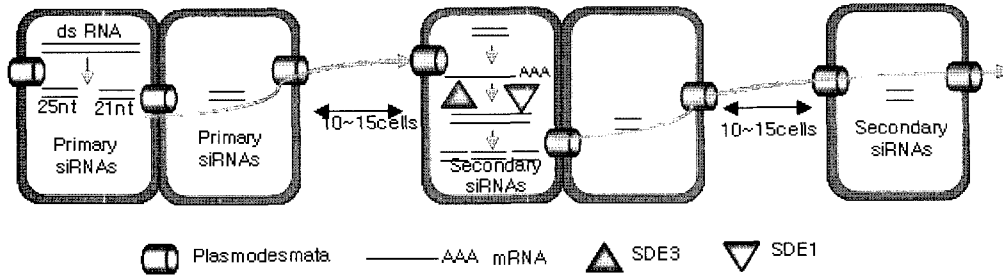
식물세포에서 바이러스 및 viroid RNA 그리고 많은 식물 RNA는 플라스모데스마타나 체관을 통해 세포 사이에 이동할 수 있다 (Gilbertson et al. 2003, Kawakami et al. 2004, Qi et al. 2004). 세포간 RNA의 이동은 바이러스의 감염 연구로부터 처음 알려졌는데 담배 모자이크 바이러스 RNA 유전체는 MP 또는 virus replication complex와 RNA-단백질 복합체를 형성함으로써 이동을 한다. 최근 감자 spindle tuber viroid의 bundle sheath 세포로부터 메소필 세포로 방향성을 갖는 세포간 이동에 관여하는 bipartite RNA sequence가 규명되었다. 이 sequence에서 돌연변이는 viroid의 세포간 이동을 저해함으로써 이 sequence와 bundle sheath 세포 특이한 특정인자들과 상호작용이 필요함을 보여 준다 (Qi et al. 2004).

옥수수 KN1의 상동체인 토마토 *LeT6* mRNA는 체관을 타

고 세포간에 이동한다는 사실이 *Mouse ears (Me)* 돌연변이 연구를 통해 보여졌다 (Kim et al. 2001). *Me* 돌연변이 표현형은 PYROPHOSPHATE-DEPENDENT PHOSPHOFRUCTOKINASE와 *LeT6* 유전자 융합에 의해 *LeT6* 유전자의 과도한 발현으로 만들어졌다. *Me* 대목에 야생형 토마토 접목의 접붙이기 실험 결과 야생형의 싹으로부터 *Me* 표현형이 나타나는데 이것은 하이브리드 *LeT6* RNA가 체관을 통해 대목으로부터 접목으로 이동으로부터 기인하였다. 그러나 어떻게 *LeT6* RNA가 세포간에 이동하는지 그 기작에 관해서는 아직 알려진 바가 없다. 반면에 옥수수 KN1의 경우 자신의 RNA의 세포간 이동을 유도할 수 있다고 이미 보고되었다 (Lucas et al. 1995). 이러한 이동은 KN1 RNA-단백질 복합체의 세포간 이동시 세포 비자율적 단백질에 의존한 릴레이 메커니즘에 의해 일어날 수 있다. KN1 RNA의 이동은 KN1을 발현하는 세포에서 KN1 단백질이 그 RNA와 결합하여 이웃세포로 이동한다. 이때 상대적으로 낮은 농도의 KN1 RNA-단백질을 갖는 이웃세포에서 복합체가 분리되고 RNA로부터 단백질이 새롭게 만들어지고 다시 RNA-단백질 복합체로 결합되어 또 다른 이웃세포로 이동할 수 있을 것이다.

mRNA 조각의 세포간 이동은 post-transcriptional gene silencing (PTGS)에 의한 유전자의 발현 조절에서 중요한 기능을 수행할 수 있다. PTGS 또는 RNA interference (RNAi)는 동식물에서 systemic하게 일어날 수 있는 RNA sequence 특이적 분해 메커니즘이다. 최근 *C. elegans* 같은 동물의 세포는 systemic RNAi에 중요한 리셉터 모양의 dsRNA transporter를 갖고 있다는 사실이 보고되었다 (Winston et al. 2002, Feinberg and Hunter 2003). 그러나 이런 종류의 단백질은 아직까지 식물계에서는 발견되고 있지 않다. Himber 등은 RNAi의 장거리 확산은 21 nt small interfering RNA의 릴레이 확대재생산 반복된 단거리 이동의 결과라고 제안하였다 (Figure 2) (Himber et al. 2003). 이 연구그룹은 현재 에틸메탄설폰네이트 (EMS) 돌연변이 탐색을 통해 systemic gene silencing이 증가되거나 결여된 돌연변이 (SILENCING MOVEMENT DEFICIENT1, 2, 3)들을 확보하였고 (Dunoyer et al. 2005) 이 같은 돌연변이의 특성분석은 siRNA의 식물세포간 이동에 대한 메커니즘을 규명하는 데 기여할 것이다.

체관을 통해 이동하는 systemic RNA 신호에 대한 연구는 호박의 체관에 존재하는 RNA의 분석으로부터 나왔다. 호박의 체관 즙은 mRNA 뿐만 아니라 18-25 nt 정도의 RNA를 포함하고 있다. ssRNA나 dsRNA의 microinjection 실험은 이런 종류의 작은 RNA들이 단순하게 세포간에 확산에 의해 이동할 수 없다는 사실을 보여준다. 호박의 체관 즙에서 분리



**Figure 2.** siRNA amplification relay. Local gene silencing can occur from origin silencing cells to around 10–15 cells in the absence of amplification, through the trafficking of primary 21 nt siRNAs. Extensive gene silencing is mediated by further spread of secondary 21 nt siRNA synthesized *de novo* by the action of SDE1 and SDE3. Modified from (Himber et al. 2003; Kim, 2005).

된 SMALL RNA BINDING PROTEIN1 (CmPSRP1)는 25 nt의 단일나선의 RNA에 특이하게 결합하고 그 이동을 유도하지만 이중나선 RNA나 긴 mRNA의 이동을 유도할 수는 없었다 (Yoo et al. 2004). CmPSRP1은 반세포에서 특이하게 발현되므로 반세포와 체요소 사이에 작은 작은 단일나선 RNA의 이동에 의한 systemic RNAi 기작에서 기능을 수행할 것으로 제안되었다.

세포간 생체고분자의 이동의 생물학적인 중요성

세포간 전사인자의 이동의 잠재적인 중요성에도 불구하고 현재 세포간 단백질이동의 생물학적인 기능이 명료하게 밝혀져 있지 않지만 다음의 네 가지 기능을 수행할 것으로 생각된다. 첫째, 세포 비자율적 단백질의 세포간 이동에 의해 형성된 농도 구배에 따른 다른 하부 유전자의 발현은 발달, 분화에서 중요한 조절기구로서 작용할 수 있다. 예를 들면, 정단 분열조직의 줄기세포와 기관형성 primordia (P<sub>0</sub>) 사이에 또는 어린 잎의 아랫부분에서 발견되는 KN1 농도 구배는 기관간 경계선에 특이한 유전자의 발현에 관여할 것으로 제안되었다 (Jackson 2002). 둘째, 세포간 단백질 이동은 세포 운명결정에서 중요한 역할을 한다. 그 예로서 SHR 단백질은 뿌리의 중심부에서 발현되지만 그 바깥쪽 세포인 endodermis 세포의 운명결정에 결정적인 영향을 미친다 (Nakajima et al. 2001, Sena et al. 2004). SHR의 세포간 이동은 단 한 세포층에 국한되어 엄격히 조절되는 양상을 보인다. 반면 인위적으로 발현되면 endodermis가 아닌 다른 세포 (cortex나 표피세포)들도 SHR의 활성에 따라 반응할 수 있다는 사실이 알려졌다. 이는 정상적인 뿌리의 분화에서 엄격하게 조절되는 SHR의 이동패턴의 중요함을 보여 준다. 다음으로 RNA와 단백질이 같은 조직의 도메인에서 발현되는 LFY의 경우에서 처럼 LFY 이동은 꽃봉오리 내에서 세포들의 운명을 동일하게 유지시키는

안전판 메커니즘으로서 작용할 수 있다 (Sessions et al. 2000). 추가로 LFY 이동이 정상적인 꽃의 발달에 중요하다는 사실이 알려지면서 단백질의 이동 그 자체가 어떤 중요한 역할을 수행한다고 제안되었다 (Wu et al. 2003). 이와 유사하게 세포간 이동능력을 갖는 KN1 또는 그 GFP-KN1 융합단백질의 과량 발현은 고유한 발달표현형을 나타내는 반면 세포간에 이동할 수 없는 GUS-KN1의 과량 발현은 KN1 과량발현 표현형을 보이지 않았다 (Kim et al. 2003). 이 같은 발견은 아마도 단백질이 이동 하는 동안 일어나는 posttranslational protein modification 등에 의해 획득되는 새로운 활성이 세포 비자율적 단백질의 어떤 기능에서 선결조건일 수 있음을 나타낸다. 그래서 식물단백질의 세포간 이동은 정상적인 발달 프로그램을 수행하는데 있어 다중의 기능을 갖는 것으로 생각된다.

결론 및 전망

플라스모데스마타를 통해 일어나는 단백질과 RNA의 이동에 의한 세포간 정보교환은 식물세포의 분화 및 발달에 있어서 결정적인 역할을 수행한다. 그러나 그 조절 및 메커니즘에 대한선 여전히 알려진 것이 많지 않다. 미래의 연구는 생체내 고분자 단백질 및 RNA가 어떻게 세포 사이에 이동하고 그 이동이 조절되는지 이해하는 데 초점이 맞추어질 것이다. 얼마나 많은 생체내 고분자가 이동하는지 또 그 이동이 선택적인지 비선택적인지 알아내는 일도 식물학에서는 큰 숙제로 남아있다. 최근 세포내에서 선택적 이동을 하는 생체고분자의 연구를 통해 가장 중요한 선택적인 이동 신호가 무엇인지 알아내는 연구들도 활발하게 진행되고 있다. 플라스모데스마타라는 미지의 터널을 정복하기 위해서는 기능단백질 및 유전체학, 유전학, 분자생물학 및 생화학적인 복합적 접근 방법이 필요할 것이다.

---

## 사 사

본 논문은 학술진흥재단 (C00099), 과기부/ 과학재단 국가 지정연구실 (M10600000205-06J0000-20510) 및 환경생명과학 국가핵심 연구센터 (R15-2003-012-01003-0), 두뇌한국21 사업에 의해 지원되었다.

---

## 인용문헌

- Aoki K, Kragler F, Xoconostle-Cazares B, Lucas W (2002) A subclass of plant heat shock cognate 70 chaperones carries a motif that facilitates trafficking through plasmodesmata. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 16342-16347
- Chen MH, Sheng J, Hind G, Handa AK, Citovsky V (2000) Interaction between the tobaccomosaic virus movement protein and host cell pectin methylesterases is required for viral cell-to-cell movement. *Embo J* 19: 913-920
- Chen XY, Kim JY (2006) Transport of macromolecules through plasmodesmata and the phloem. *Physiol Plantarum* 126: 560-571
- Dawe RK, Freeling, M (1991) Cell lineage and its consequences in higher plants. *Plant J* 1: 3-8
- Deom CM, Oliver MJ, Beachy RN (1987) The 30- Kilodalton Gene-Product of Tobacco Mosaic-Virus Potentiates Virus Movement. *Science* 237: 389-394
- Desvoyes B, Faure-Rabasse S, Chen MH, Park JW, Scholthof HB (2002) A novel plant homeodomain protein interacts in a functionally relevant manner with a virus movement protein. *Plant Physiol* 129: 1521-1532
- Dunoyer P, Himber C, Voinnet O (2005) DICER-LIKE 4 is required for RNA interference and produces the 21-nucleotide small interfering RNA component of the plant cell-to-cell silencing signal. *Nat Genet* 37: 1356-1360
- Escobar N, Haupt S, Thow G, Boevink P, Chapman S, Oparka K (2003) High-Throughput Viral Expression of cDNA-Green Fluorescent Protein Fusions Reveals Novel Subcellular Addresses and Identifies Unique Proteins That Interact with Plasmodesmata. *Plant Cell* 15: 1507-1523.
- Faulkner C, Brandom J, Maule A, Oparka K (2005) Plasmodesmata 2004. Surfing the symplasm. *Plant Physiol* 137: 607-610
- Feinberg EH, Hunter CP (2003) Transport of dsRNA into cells by the transmembrane protein SID-1. *Science* 301: 1545-1547
- Gallagher KL, Paquette AJ, Nakajima K, Benfey PN (2004) Mechanisms regulating SHORT-ROOT intercellular movement. *Current Biology* 14: 1847-1851
- Giesman-Cookmeyer D, Lommel SA (1993) Alanine scanning mutagenesis of a plant virus movement protein identifies three functional domains. *Plant Cell* 5: 973-982
- Gilbertson R, Sudarshana M, Jiang H, Rojas M, Lucas W (2003) Limitations on geminivirus genome size imposed by plasmodesmata and virus-encoded movement protein: insights into DNA trafficking. *Plant Cell* 15: 2578-2591
- Gillespie T, Boevink P, Haupt S, Roberts AG, Toth R, Valentine T, Chapman S, Oparka KJ (2002) Functional analysis of a DNA-shuffled movement protein reveals that microtubules are dispensable for the cell-to-cell movement of tobacco mosaic virus. *Plant Cell* 14: 1207-1222
- Himber C, Dunoyer P, Moissiard G, Ritzenthaler C, and Voinnet O (2003) Transitivity-dependent and -independent cell-to-cell movement of RNA silencing. *EMBO J* 22: 4523-4533
- Huala E, Sussex IM (1993) Determination and cell Interactions in reproductive meristems. *Plant Cell* 5: 1157-1165
- Imlau A, Truernit E, Sauer N (1999) Cell-to-cell and long-distance trafficking of the green fluorescent protein in the phloem and symplastic unloading of the protein into sink tissues. *Plant Cell* 11: 309-322
- Ishiwatari Y, Fujiwara T, McFarland KC, Nemoto K, Hayashi H, Chino M, Lucas WJ (1998) Rice phloem thioredoxin h has the capacity to mediate its own cell-to-cell transport through plasmodesmata. *Planta* 205: 12-22
- Jackson D (2002) Double labeling of KNOTTED1 mRNA and protein reveals multiple potential sites of protein trafficking in the shoot apex. *Plant Physiol* 129: 1423-1429
- Jackson D, Hake S (1997) Morphogenesis on the move: cell-to-cell trafficking of plant regulatory proteins. *Curr Opin Genet Dev* 7: 495-500
- Kawakami S, Watanabe Y, Beachy RN (2004) Tobacco mosaic virus infection spreads cell to cell as intact replication complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 6291-6296
- Kim I, Hempel F, Sha K, Pfluger J, Zambryski P (2002) Identification of a developmental transition in plasmodesmatal function during embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 129: 1261-1272
- Kim JY (2005) Regulation of short-distance transport of RNA and protein. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 45-52
- Kim JY, Rim Y, Wang J, Jackson D (2005) A novel cell-to-cell trafficking assay indicates that the KNOX homeodomain is necessary and sufficient for intercellular protein and mRNA trafficking. *Genes & Development* 19: 788-793
- Kim JY, Yuan Z, Cilia M, Khalfan Z, Jackson D (2002) Intercellular trafficking of a biologically active Knotted1 green fluorescent protein fusion in *Arabidopsis*. *Pro. Nat. Aca. Sci. USA* 99: 4103-4108
- Kim JY, Yuan Z, Jackson D (2003) Developmental regulation and significance of KNOX protein trafficking in *Arabidopsis*. *Development* 130: 4351-4362
- Kim SW, Moon JY, Jung JH, Chen X, Shi C, Rim YG, Kwon

- HJ, Jackson D, Datla R, Joliot A, Kim JY (2005) Intercellular trafficking of Homeodomain proteins. *Plant Pathol J* 21: 21-26
- Kim M, Canio W, Kessler S, Sinha N (2001) Developmental changes due to long-distance movement of a homeobox fusion transcript in tomato. *Science* 293: 287-289
- Kragler F, Curin M, Trutnyeva K, Gansch A, Waigmann E (2003) MPB2C, a microtubule-associated plant protein binds to and interferes with cell-to-cell transport of tobacco mosaic virus movement protein. *Plant Physiol* 132: 1870-1883
- Kragler F, Monzer J, Shash K, Xoconostle-Cazares B, Lucas WJ (1998) Cell-to-cell transport of proteins: requirement for unfolding and characterization of binding to a putative plasmodesmal receptor. *Plant Journal* 15: 367-381
- Kuhn C, Franceschi VR, Schulz A, Lemoine R, Frommer, WB (1997) Macromolecular trafficking indicated by localization and turnover of sucrose transporters in enucleate sieve elements. *Science* 275: 1298-1300
- Lee JY, Taoka K, Yoo BC, Ben-Nissan G, Kim DJ, Lucas WJ (2005) Plasmodesmal-associated protein kinase in tobacco and *Arabidopsis* recognizes a subset of non-cell-autonomous proteins. *Plant Cell* 17: 2817-2831
- Lee J, Yoo B, Rojas M, Gomez-Ospina N, Staehelin L, Lucas, W (2003) Selective trafficking of non-cell-autonomous proteins mediated by NtNCAPP1. *Science* 299: 392-396
- Lee JY, Yoo BC, Lucas, WJ (2000) Parallels between nuclear-pore and plasmodesmal trafficking of information molecules. *Planta* 210: 177-187
- Lucas WJ, Bouche-Pillon S, Jackson DP, Nguyen L, Baker L, Ding B, Hake S (1995) Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. *Science* 270: 1980-1983
- Martens H, Hansen M, Schulz A (2004) Caged probes: a novel tool in studying symplasmic transport in plant tissues. *Protoplasma* 223: 63-66
- Mas P, Beachy RN (2000) Role of microtubules in the intracellular distribution of tobacco mosaic virus movement protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 12345-12349
- Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfey, P (2001) Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature* 413: 307-311
- Oparka KJ (2004) Getting the message across: how do plant cells exchange macromolecular complexes? *Trends Plant Sci* 9: 33-41
- Oparka KJ, Roberts AG, Boevink P, Santa Cruz S, Roberts I, Pradel KS, Imlau A, Kotlizky G, Sauer N, Epel, B (1999) Simple, but not branched, plasmodesmata allow the nonspecific trafficking of proteins in developing tobacco leaves. *Cell* 97: 743-754
- Perbal MC, Haughn G, Saedler H, Schwarz-Sommer Z (1996) Non-cell-autonomous function of the Antirrhinum floral homeotic proteins DEFICIENS and GLOBOSA is exerted by their polar cell-to-cell trafficking. *Development* 122: 3433-3441
- Peremyslov VV, Dolja VV (2002) Identification of the subgenomic mRNAs that encode 6-kDa movement protein and Hsp70 homolog of Beet yellows virus. *Virology* 295: 299-306
- Poethig RS (1987) Clonal analysis of cell lineage patterns in plant development. *Am J Bot* 74: 581-594
- Qi Y, Pelissier T, Itaya A, Hunt E, Wassenegger M, Ding, B (2004) Direct Role of a Viroid RNA Motif in Mediating Directional RNA Trafficking across a Specific Cellular Boundary. *Plant Cell* 16: 1741-1752
- Ruiz-Medrano R, Xoconostle-Cazares B, Lucas, WJ (1999) Phloem long-distance transport of CmNACP mRNA: implications for supracellular regulation in plants. *Development* 126: 4405-4419
- Sena G, Jung JW, Benfey PN (2004) A broad competence to respond to SHORT ROOT revealed by tissue-specific ectopic expression. *Development* 131: 2817-2826
- Sessions A, Yanofsky MF, Weigel D (2000) Cell-cell signaling and movement by the floral transcription factors LEAFY and APETALA1. *Science* 289: 779-782
- Soellick T, Uhrig JF, Bucher GL, Kellmann JW, Schreier PH (2000) The movement protein NSm of tomato spotted wilt tospovirus (TSWV): RNA binding, interaction with the TSWV N protein, and identification of interacting plant proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 2373-2378
- van Bel AJE, Ehlers K, Knoblauch M (2002) Sieve elements caught in the act. *Trends in Plant Science* 7: 126-132
- Wada T, Kurata T, Tominaga R, Koshino-Kimura Y, Tachibana T, Goto K, Marks MD, Shimura Y, Okada K (2002) Role of a positive regulator of root hair development, CAPRICE, in *Arabidopsis* root epidermal cell differentiation. *Development* 129: 5409-5419
- Waigmann E, Chen MH, Bachmaier R, Ghoshroy S, Citovsky, V (2000) Regulation of plasmodesmal transport by phosphorylation of tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein. *Embo J* 19: 4875-4884
- Waigmann E, Lucas WJ, Citovsky V, Zambryski, P (1994) Direct functional assay for tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein and identification of a domain involved in increasing plasmodesmal permeability. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 1433-1437
- Walz C, Giavalisco P, Schad M, Juenger M, Klose J, Kehr, J (2004) Proteomics of curcubit phloem exudate reveals a network of defence proteins. *Phytochemistry* 65: 1795-1804
- Winston WM, Molodowitch C, Hunter CP (2002) Systemic RNAi in *C. elegans* requires the putative transmembrane protein SID-1. *Science* 295: 2456-2459
- Wolf S, Deom CM, Beachy RN, Lucas, WJ (1989) Movement Protein of Tobacco Mosaic-Virus Modifies Plasmodesmal Size Exclusion Limit. *Science* 246: 377-379
- Wu X, Dinneny J, Crawford K, Rhee Y, Citovsky V, Zambryski



- P, Weigel D (2003) Modes of intercellular transcription factor movement in the Arabidopsis apex. *Development* 130: 3735-3745
- Xoconostle-Cazares B, Xiang Y, Ruiz-Medrano R, Wang HL, Monzer J, Yoo BC, McFarland KC, Franceschi VR, Lucas WJ (1999) Plant paralog to viral movement protein that potentiates transport of mRNA into the phloem. *Science* 283: 94-98
- Yoo BC, Kragler F, Varkonyi-Gasic E, Haywood V, Archer-Evans S, Lee YM, Lough TJ, Lucas, WJ (2004) A systemic small RNA signaling system in plants. *Plant Cell* 16: 1979-2000

(접수일자 2006년 11월 2일, 수리일자 2007년 6월 4일)