

현사시나무에서 *MYC2* 유전자의 분리 및 노화 지연에 관한 특성 구명

최현모 · 배은경 · 조진성 · 이효신 · 최영임

Identification and characterization of the *MYC2* gene in relation to leaf senescence response in hybrid poplar (*Populus alba* × *P. glandulosa*)

Hyunmo Choi · Eun-Kyung Bae · Jin Seong Cho · Hyoshin Lee · Young-Im Choi

Received: 20 September 2017 / Revised: 16 November 2017 / Accepted: 16 November 2017

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The vegetation period of trees might be prolonged by the delay of the leaf senescence in autumn. Thus, we focused on the generation of senescence-delayed transgenic trees to enhance biomass production. The *PagMYC2*, a gene containing the basic helix-loop-helix domain, was selected as a candidate for a senescence-delayed transgenic tree. The *PagMYC2* gene was specifically induced after treatment with phytohormone jasmonic acid, and upregulated by abiotic stresses such as salinity, osmotic pressure and a low temperature. The constitutive overexpression of the *PagMYC2* delayed the leaf senescence and inhibited chlorophyll degradation in the transgenic poplars. Leaf senescence analysis was performed in the leaf tissues of the *PagMYC2*-overexpression transgenic poplars. The transgenic poplars exhibited higher photochemical efficiency than did a wild type plant under a short-day condition (6 hours light/ 18 hours darkness) or a low temperature condition (15°C) that was similar to the weather conditions of autumn. These results suggest that the *PagMYC2* is a useful genetic resource to improve biomass production, which is able to sustain growth with senescence-delayed leaves for a long time in autumn.

Keywords Leaf Senescence, Gene Expression, *MYC2*, Transgenic Poplar

H. Choi, E.-K. Bae, H. Lee, Y.-I. Choi (✉)
국립산림과학원 산림생명공학과
(Forest Biotechnology Division, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea)
e-mail: yichoi99@korea.kr

J. S. Cho
경희대학교 식물환경신소재공학과
(Department of Plant and Environmental New Resources, Kyung Hee University, Yongin 17104, Korea)

서 언

잎의 노화는 잎 발달의 가장 마지막 단계이다. 식물에서 잎의 노화 과정은 제한된 영양분과 에너지를 재분배하여 종자의 형성과 발달에 영향을 주거나 저장 기관에 보존함으로써 겨울을 날 수 있도록 하여 식물 생존과 세대 보존에 기여한다. 잎의 노화가 진행되면서 엽록소는 급격히 손실되고 (Hortensteiner 2006), 광화학 효율은 감소되며 광합성 관련 유전자들의 발현이 억제된다(Lohman et al. 1994; Gan and Amasino 1995; Park et al. 1998; Weaver et al. 1998; Miller et al. 1999). 또한 노화 관련 유전자들은 더욱 활성화되고, 막 이온의 누출이 증가한다(Woo et al. 2001). 가뭄, 추위 및 병원체 감염과 같은 다양한 외부 스트레스는 잎을 노화시키는 자극이 된다. 앱시스산(Abscisic Acid, ABA), 에틸렌(Ethylene), 자스몬산(Jasmonic Acid, JA) 및 지베렐린(Gibberellic Acid, GA)과 같은 내인성 식물 호르몬은 잎을 노화시키는 신호전달과정을 조절한다(Pourtau et al. 2004; Li et al. 2013; Zhang et al. 2013; Chen et al. 2014; Yang et al. 2014).

JA는 지질에서 유래된 식물 호르몬으로 다양한 방어 반응과 발달 과정을 조절한다. JA 신호는 COI1 (CORONATINE INSENSITIVE 1)에 의해 감지되어(Xie et al. 1998; Yan et al. 2009; Rowe et al. 2010; Sheard et al. 2010), ubiquitination과 단백질 분해를 위해 JAZ(JASMONATE ZIM-DOMAIN PROTEIN) repressor와 결합한다(Chini et al. 2007; Thines et al. 2007; Yan et al. 2007; Pauwels et al. 2010). 그 결과로 *MYC2*, *MYC3*, *MYC4*를 포함한 JA 반응에 필수적인 다양한 하부 전사인자들이 활성화된다(Cheng et al. 2011; Fernández-Calvo et al. 2011; Niu et al. 2011). JA는 잎의 노화를 유도하고 애기장대(He et al. 2002; Shan et al. 2011), 옥수수(Yan et al. 2012), 벼(Lee et al. 2015) 등에서 노화 관련 유전자의 발현을 조절하는 것이 보고된 바 있다. 임목의 경우 소나무 및 측백나무, 주목 등에서 메틸자

스몬산이 식물 방어를 활성화시킨다는 것이 알려져 있지만 (Hudgins et al. 2003, 2004) JA와 잎 노화 현상의 관계를 설명할 수 있는 연구는 진척되지 못하였다. 포플러의 경우 JA를 처리했을 경우 광합성 생성물의 조직간 이동에 영향을 주는 것이 알려진 바 있는데 (Babst et al. 2005) 이는 영양분과 에너지의 재분배라는 측면에서 잎의 노화 현상과 연관 지을 수 있는 중요한 실마리로 보여진다.

*MYC2*는 표적 유전자의 프로모터에서 G박스를 인지하여 JA 신호전달경로를 조절하는 basic Helix-loop-Helix (bHLH) 전사인자를 암호화한다 (Kazan and Manners 2013). *MYC2*는 식물의 물리적 손상이나 산화 스트레스 등에 대한 적응, 그리고 JA 및 안토시아닌 등의 생합성과 같은 JA 반응들을 유도한다. 또한, 트립토판 대사나 괴사성 병원균에 대한 방어와 같은 JA 반응들을 억제한다 (Fernández-Calvo et al. 2011; Schweizer et al. 2013; Song et al. 2013).

본 연구에서는 환경 스트레스로 인한 생산성의 감소를 극복하기 위해 현사시나무 (*Populus alba* x *P. grandulosa*)에서 분리한 *MYC2* 유전자를 cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter로 과발현시킨 현사시나무를 육성하였다. 형질전환 현사시나무는 잎의 노화현상이 지연되고, 외부 스트레스에 대한 내성이 증가함을 확인하였다. 따라서 이러한 결과를 토대로 다양한 환경 스트레스에 대한 내성을 증진시키고 낙엽이 지는 시기를 지연시켜 생장을 증가시킬 수 있는 임목 개발에 기여할 수 있을 것으로 기대한다.

재료 및 방법

유전자 분리 및 아미노산 서열 분석

배양세포에서 분리한 mRNA를 사용하여 제작한 cDNA 라이브러리 유래의 EST (expressed sequence tag) 클론 분석 (Lee et al. 2005)을 통하여 식물에서 보고된 *MYC2* 유전자와 상동성을 나타내는 cDNA 클론을 선발하였다.

비생물적 스트레스 및 식물 호르몬 처리

배양세포에 삼투압 (mannitol, 250 mM)과 염 (NaCl, 150 mM) 스트레스를 각각 처리한 다음 3시간과 6시간 후에 세포를 회수하였다. 저온처리를 위해 배양세포가 들어있는 삼각 플라스크를 얼음에 꽂아 (약 2°C) 3시간과 6시간 동안 진탕배양하였다. 식물 호르몬에 대한 반응을 조사하기 위하여 ABA (25 µM), GA (20 µM), Salicylic Acid (SA, 20 µM) 및 JA (10 µM)를 각각 배양 배지에 첨가하고 5시간 후에 세포를 회수하였다. 대조구는 동일한 배양세포를 아무런 처리 없이 시간 별로 각각 회수하였다. 모든 실험은 3반복으로 수행하였고, 회수한 시료는 즉시 액체 질소에 얼린 다음 -80°C에 보관하였다.

조직특이성 및 유전자 발현 분석

조직특이성 분석을 위하여 정단, 잎, 엽병, 줄기 및 뿌리는 1년생 묘목으로부터, 꽃은 25년생 나무로부터 채취하였다. Total RNA는 RNeasy Plant Mini kit (Qiagen, 독일)를 사용하여 분리하였고 cDNA를 합성하였다 (RNA to cDNA EcoDry Premix, Clontech, 미국). Real-time PCR 분석에 사용할 primer를 설계하기 위하여 Primer3 프로그램 (<http://fokker.wi.mit.edu>)을 사용하였다. *PagMYC2* 유전자의 PCR 증폭에는 정방향 5'-CGA TGC TAC CGA CTC TGA GT-3' 및 역방향 5'-AGA ACC CCA CAC GAT GTA GG-3' primer를 사용하였다. 정량을 위한 내부표준으로는 *Actin* 유전자를 사용하였다 (Kim et al. 2011). PCR 증폭반응을 위해 1 µl의 cDNA, 10 µl의 PCR Master Mix (2×SYBRGreen, BioRad, 미국), 1 µl의 정방향 및 역방향 primer (10 µM) 그리고 7 µl의 nuclease-free water를 혼합하였다. 증폭반응은 실시간 모니터링이 가능한 PCR 증폭기 (CFX96 Touch™ Real-Time PCR, BioRad, 미국)를 사용하여 95°C에서 3분간 1회, 95°C 15초의 변성, 60°C 15초의 결합 그리고 72°C 20초의 중합 과정을 40회 그리고 72°C에서 10분간 1회 실시하였다. 분석은 3반복으로 수행하였고, 각 시료에서의 유전자 발현량을 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 법에 따라 상대정량 하였다 (Pfaffl 2001).

PagMYC2 과발현 형질전환 벡터 제작

PagMYC2 유전자의 과발현 벡터 제작을 위해 정방향 primer (5'- AAA AAG CAG GCT ATG GAG GAA CTC ATT ATT TCT -3')와 역방향 primer (5'- AGA AAG CTG GGT TTA TTC TAG TCT TCC AAG AAG AG -3')를 이용하여 PCR 증폭하였다. PCR 산물을 agarose gel에서 분리하고 UltraClean 15 DNA purification kit (MoBio, 대한민국)를 이용하여 정제하였다. 정제된 PCR 산물을 Gateway system (Invitrogen, 미국)의 매뉴얼에 따라 pENTR1A 벡터에 삽입 후, LR Clonase (Invitrogen, 미국)를 이용하여 pH2GW7 벡터로 in vitro recombination하여 과발현 벡터인 pH2GW7-*PagMYC2* 를 제작하였다.

아그로박테리아를 이용한 현사시나무 형질전환

형질전환용 벡터를 현사시나무로 도입하기 위하여 *Agrobacterium tumefaciens* GV3101을 이용하였다. 시험관에서 6주간 무균배양한 현사시나무의 줄기를 약 5~7 mm의 길이로 잘라 아그로박테리아와 15분간 공조 배양하였다 (Choi et al. 2005). 이를 캘러스 유도배지 (MS, 2,4-D 1.0 mg/L, BAP 0.1 mg/L, NAA 0.01 mg/L)에서 2일간 암배양 한 후, hygromycin 0.2 mg/L가 첨가된 캘러스 유도배지에서 4~5주간 배양하였다. 이후 캘러스로부터 신태를 유도하기 위해 줄기 유도배지 (WPM, Zeatin 1.0 mg/L, BAP 0.1 mg/L, NAA 0.01 mg/L, hygromycin 0.2 mg/L)로 옮겨 4~6주간 배양하였다. 유도된 신태는 뿌리 유

도배지(½ MS, IBA 0.2 mg/L)로 옮겼다. 식물체는 25°C, 30 μmole m⁻²S⁻¹, 16시간 광조건에서 배양하였다. 형질전환 여부는 삽입된 T-DNA 부분을 증폭할 수 있는 primer를 이용하여 genomic PCR 분석을 통하여 확인하였다.

노화 지연 효과 분석

잎의 노화 지연 효과 분석을 위하여 낙엽이 지는 시기의 온도인 15°C(1981년-2010년 10월 서울평균 기온 14.8°C, 대한민국 기상청) 및 단일 광주기(명 6시간, 암 18시간) 조건에서 광화학계II의 광화효율(John et al. 1995; Oh et al. 1997)을 측정하였다. 현사시나무의 기내묘를 6주 동안 25°C, 30 μmole m⁻²S⁻¹, 장일 광조건의 생장상에서 생육시킨 후, 상기 온도 조건 또는 단일 광주기 조건의 생장상으로 옮겨서 한달간 생육하였다. 날짜별로 3번째 및 4번째 잎을 채취한 후 Photochemical Efficiency Analyzer (Hansatech instruments LTD, 영국)를 이용하여 잎의 노화를 측정하였다.

결과 및 고찰

현사시나무에서 MYC2 유전자의 분리

현사시나무 유래의 cDNA 라이브러리에서 선발한 EST 분석 결과에서 MYC2 유전자의 cDNA 클론을 선발하였다. 선발된 클론의 전장 cDNA를 분리하여 염기서열을 결정하고 아미노산 서열을 분석한 결과, *P. trichocarpa*의 PtMYC2와 단백질 수준에서 98%의 상동성을 나타내어 이를 *PagMYC2* (*Populus alba* × *P. glandulosa* MYC2)라 명명하고 그 특성을 구명하였다. DNA 염기서열 분석 결과, *PagMYC2*는 1476 base pair 길이의 open reading frame을 가지는 것으로 나타났다. *PagMYC2*에 의해 암호화되는 예상 단백질은 491개의 아미노산으로 구성되며, 예상 분자량은 54.65 kDa이었다.

유전자의 발현양상 분석

PagMYC2 유전자의 조직특이적 발현특성을 분석하기 위해 현사시나무의 정단, 어린 잎, 성숙 잎, 엽병, 줄기, 뿌리, 그리고 꽃에서 total RNA를 분리하여 real-time PCR 분석을 실시하였다. 그 결과 정단과 성숙 잎 그리고 뿌리에서 발현이 높았으며 꽃에서 발현이 가장 낮게 나타났다(Fig. 1).

호르몬 처리에 따른 유전자의 발현을 확인하기 위해 ABA, GA, SA 및 JA를 각각 처리하였다. *PagMYC2* 유전자는 호르몬 처리 5시간 후에 ABA와 GA, SA에서는 발현변화가 거의 없었다. 그러나, JA를 처리했을 때 약 15배 이상 증가함으로써, JA에서만 특이적으로 발현하는 유전자임을 확인하였다(Fig. 2A).

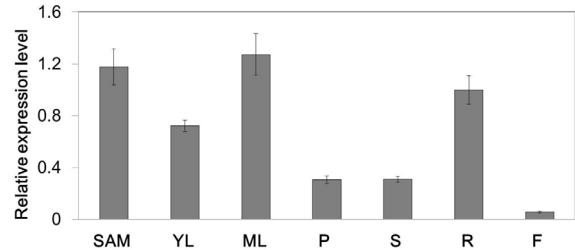


Fig. 1 Tissue-specific expression of *PagMYC2*. The transcript levels of the *PagMYC2* were measured in various tissues. The total RNA was isolated from the shoot apical meristem (SAM), young leaves (YL), mature leaves (ML), petiole (P), stem (S), roots (R), and flowers (F) for real-time PCR

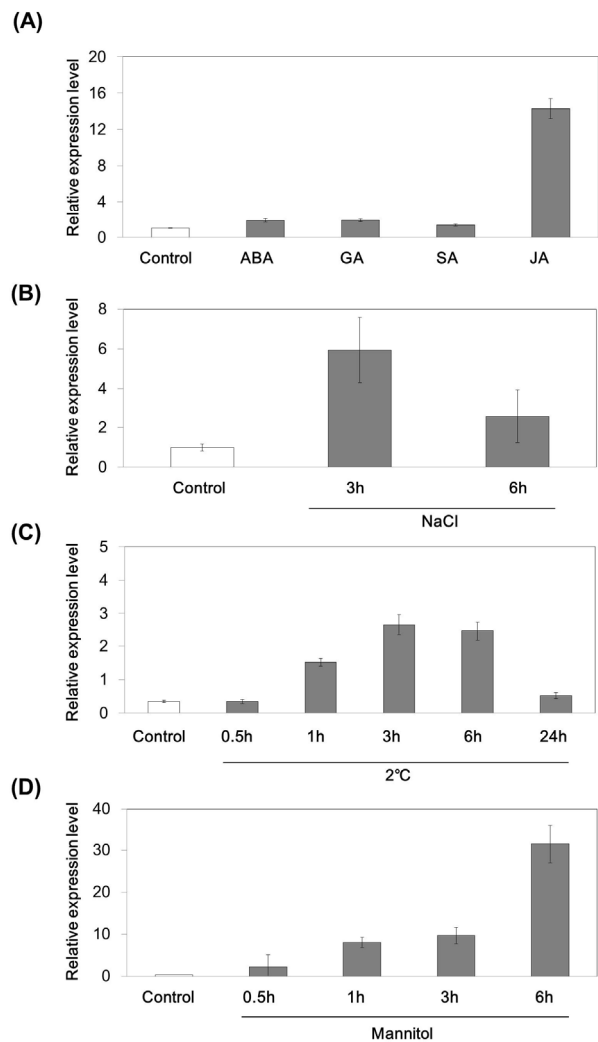


Fig. 2 Expression levels of the *PagMYC2* under various treatment conditions. (A) The *PagMYC2* expression in response to treatment with plant growth regulators including ABA (25 μM), GA (20 μM), SA (20 μM) and JA (10 μM) for 5 hours. (B)-(D) The *PagMYC2* expression in response to treatment with 150 mM NaCl (B), 2°C cold temperature (C) and 250 mM mannitol (D). Untreated control cells were incubated for the same time periods. The *PagMYC2* expression levels are presented as relative values when compared to those of the untreated controls. Error bars show the standard deviation of the expression levels

스트레스에 대한 유전자의 발현양상을 확인하기 위해 염, 저온 및 삼투압 조건 하에서 시간에 따른 유전자의 발현을 확인하였다. 그 결과 *PagMYC2* 유전자는 염, 저온, 삼투압 스트레스에 대해 발현이 모두 증가하였으며, 특히 삼투압 스트레스 처리 6시간 후 30배 이상으로 가장 높게 발현하였다 (Fig. 2B-D).

애기장대 *MYC2*는 JA와 ABA에 의해 발현이 조절되고 GA 및 SA 등의 호르몬과 신호전달과정에서 crosstalk 하는 것이 알려져 있고(Kazan and Manners 2013) 현사시나무의 *MYC2*도 애기장대와 마찬가지로 JA에서 발현이 증가하는 것이 확인되었으나 다른 호르몬에 의한 조절은 확인하지 못하였다. 다만 발현 이후의 crosstalk의 가능성에 대해서는 조사가 필요할 것으로 보인다. 현사시나무의 경우 여러 스트레스 조건 중에서 삼투압 스트레스에 의한 발현 증가가 두드러졌으며 이는 애기장대에서도 확인되는 사실이다(Abe et al. 2003)

PagMYC2 과발현 현사시나무 육성

염, 저온 및 삼투압 스트레스 조건에서 발현 증가가 확인된 *PagMYC2* 유전자의 스트레스 내성을 구명하기 위하여 형질 전환 현사시나무를 육성하였다. pH2GW7 벡터를 기본골격으로 하여 CaMV 35S::*PagMYC2* construct를 제작하였다(Fig. 3A). 이를 아그로박테리아를 이용하여 현사시나무에 도입한 후 10 계통의 형질전환체를 획득하였고, 그 중 발현량이 가장 높은 것과 낮은 것 두 계통의 형질전환체를 선발하였다. *PagMYC2* 유전자의 발현수준을 real-time PCR을 통하여 확인할 결과 대조구보다 약 4배(35S::*PagMYC2* #2)와 50배(35S::*PagMYC2* #7) 이상 증가함을 확인하였다(Fig. 3B).

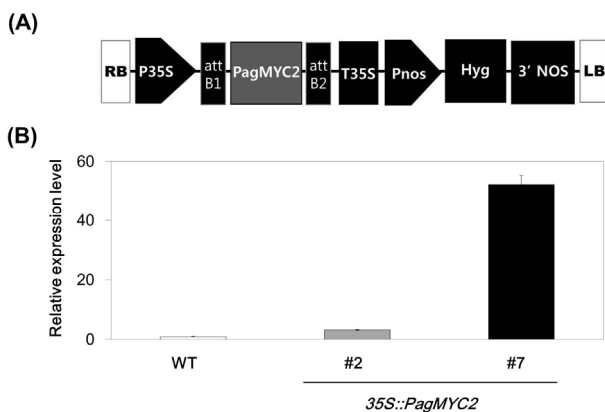


Fig. 3 Generation of the *PagMYC2* overexpression transgenic tree using *Agrobacterium*-mediated transformation. (A) The strategy for construction of the expression vector pH2GW7, containing the *PagMYC2* under the control of the CaMV 35S promoter. (B) Relative *PagMYC2* transcript levels in each transgenic line. The expression level of the transgenic plants of lines #2, and #7 were confirmed using real-time PCR. Error bars show the standard deviation of the expression levels

표현형 분석을 통한 노화 지연 효과 확인

온실에서 4개월 동안 자란 현사시나무 포트묘의 잎을 관찰한 결과, 잎의 노화가 진행되는 동안 *PagMYC2* 과발현 현사시나무는 대조구에 비해 황화 현상이 지연되는 것을 확인하였다(Fig. 4). 또한 *PagMYC2* 유전자의 발현이 높을수록 황화 현상이 상대적으로 더 지연되는 것으로 나타났다.

엽록소 손실은 잎의 노화가 진행되는 동안 관찰되는 특성으로 알려져 있다(Quirino et al. 2000). Fig. 4의 잎의 색 변화가 엽록소 손실의 결과인지 확인하기 위하여 과발현 현사시나무의 잎의 엽록소 함량을 측정하였다. 그 결과, 과발현 현사시나무는 대조구에 비하여 최대 3.5배 이상 높은 엽록소 함량을 보였다(Fig. 5). 이러한 결과를 통해 *PagMYC2*의 과발현이 잎의 노화지연과 관련이 있음을 추정할 수 있다.

JA를 처리하면 잎의 노화가 유도되는 것이 애기장대에서 보고되었고, 이러한 반응은 *MYC2*를 통하여 JA 신호전달계의 유전자들이 조절되면서 이루어지는 것으로 알려져 있다

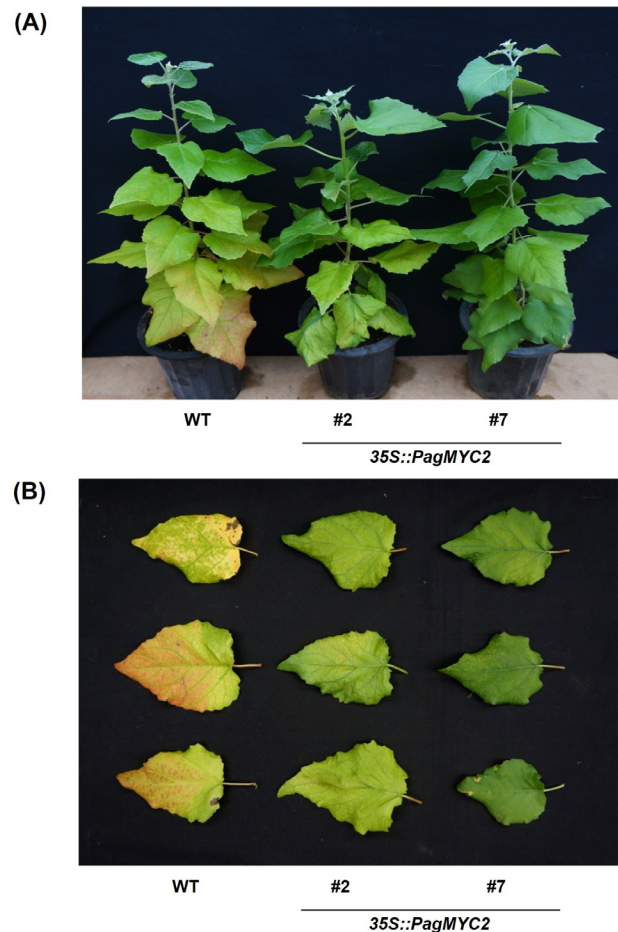


Fig. 4 35S::The *PagMYC2* poplars resulted in a delayed leaf senescence. (A)-(B) A leaf senescence phenotype was examined in bottom leaves of the *PagMYC2* transgenic poplars at 16 weeks after being planted in pots

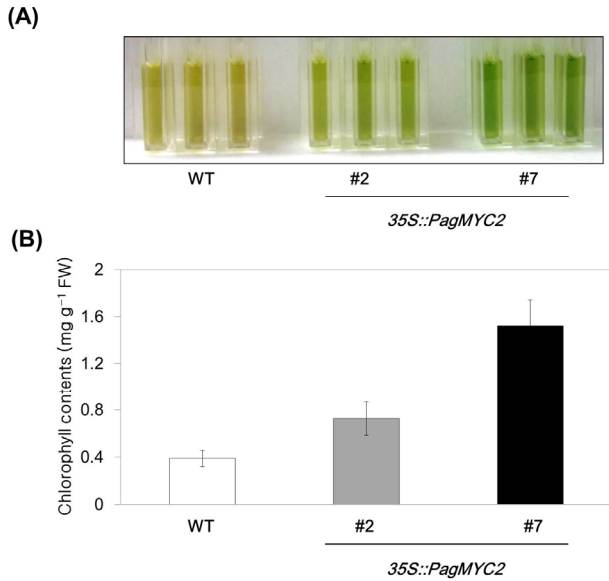


Fig. 5 The chlorophyll contents of the *PagMYC2* transgenic line. (A) The appearance of the leaf extracts from the bottom leaves of the wild type and transgenic poplars at 16 weeks after being planted in pots. (B) The chlorophyll content of the detached bottom leaves of poplars at 16 weeks after being planted in pots. The chlorophyll concentration was spectrometrically measured in the extracts from detached leaves. Values are means \pm standard deviation ($n = 3$)

(Shan et al. 2011). 그런데 *MYC2*는 JA 반응을 억제하는 JAZ의 발현을 증가시켜 JA 반응이 필요 이상으로 증폭되지 않도록 조절하는 역할(desensitization)을 하기도 한다(Chini et al. 2007). 이러한 측면에서 볼 때 과발현 현사시나무에서의 잎의 노화 지연 효과는 *PagMYC2* 유전자의 과발현에 의한 JAZ 증가에 따른 JA 신호전달의 약화 기작으로 추정된다.

온도 및 광주기 조건에 따른 노화 지연 효과 분석

온도 변화에 따른 잎의 노화 지연 효과를 조사하기 위하여 과발현 현사시나무를 6주 동안 성장상에서 생육시킨 후, 낙엽이 지는 시기의 평균 온도로 알려진 15°C의 온도 처리를 실시하여 잎의 광화합효율을 비교하였다. 그 결과, 대조구에 비하여 과발현 현사시나무의 잎에서 상대적으로 높은 광화합효율을 나타내는 것을 확인하였다. 또한, 두 계통의 형질전환 현사시나무를 비교하였을 때 35S::*PagMYC2* #2 보다는 35S::*PagMYC2* #7의 잎에서 상대적으로 높은 광화합효율을 확인하였다(Fig. 6A).

가을의 광주기 조건에서 잎의 노화 지연 효과를 조사하기 위하여 *PagMYC2* 과발현 현사시나무를 6주 동안 성장상에서 생육시킨 후, 단일 광주기 조건으로 옮겨서 한 달간 생육하고 잎의 광화합효율을 조사하였다. *PagMYC2* 과발현 현사시나무의 잎은 두 계통 모두 대조구보다 광화합효율이 높았다. 형질전환 현사시나무의 두 계통은 서로 다른 광화합효

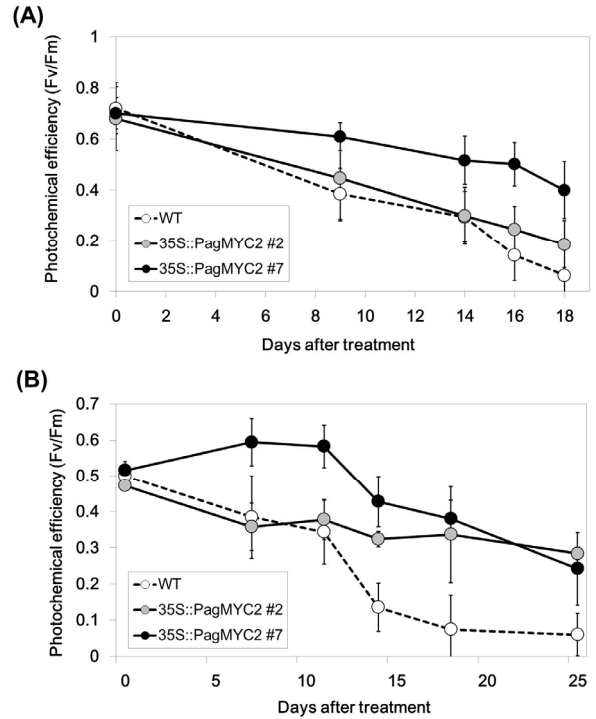


Fig. 6 The leaf senescence analysis in the *PagMYC2* transgenic poplars. The photochemical efficiency was investigated under temperature of 15°C (A), and under a short-day condition of 6 h light / 18 h darkness (B). Values are means \pm standard deviation ($n \geq 20$)

율을 나타내었다. 즉, 35S::*PagMYC2* #2는 약 10일이 경과될 때 까지는 대조구와 유사한 수준의 광화합효율을 나타내었으나, 10일 이후에는 대조구보다 높은 수준의 광화합효율을 유지하였다. 반면, 35S::*PagMYC2* #7은 약 15일이 경과될 때 까지 대조구 및 35S::*PagMYC2* #2보다 광화합효율이 높게 나타났다(Fig. 6B). 즉, 두가지 실험 결과 모두에서 *PagMYC2* 유전자의 발현이 높은 형질전환체일수록 노화 지연 효과가 상대적으로 더 증가되었다.

본 연구의 결과들을 토대로 볼 때, *PagMYC2*는 식물 호르몬 중에서 JA에 의해 특이적으로 발현되는 유전자로서 다양한 환경 스트레스에 의해서도 발현이 증가되는 것으로 추정된다. *PagMYC2*의 발현은 낙엽 지는 시기에 잎의 엽록소 함량을 보존하고 이를 통해 광화합 효율을 상대적으로 높게 유지시킨다. 이러한 잎의 노화 지연을 통하여 더 오랜 시간 동안 광합성을 가능하게 하여 식물의 생산성을 증진시키는데 기여할 수 있다는 것이 잘 알려져 있다. 예를 들어 옥수수과 사탕수수에서 노화 억제 품종들은 질병 저항성이 증가되고 작물의 수확량이 증가되는 것이 보고되었고(Thomas and Smart, 1993), 노화 억제 호르몬으로 알려진 사이토키닌의 자가조절로 인해 노화가 지연되는 형질전환 담배는 종자 생산 뿐만 아니라 바이오매스를 증가시킨다는 것이 알려져 있다(Gan and Amasino, 1995). JA는 노화를 유도하는 식물 호르몬이고 *MYC2*는 JA 반응을 매개하는 양성조절자로 알려져 있

지만, JAZ repressor를 증가시켜 JA 반응을 억제하는 역할도 수행한다. *PagMYC2* 과발현 현사시나무에서의 노화 지연 효과는 이러한 억제 반응과 밀접한 연관성을 가질 것으로 예상되며, 구체적인 기작 구명 연구가 더 필요할 것으로 판단된다.

적 요

JA는 병원균과 곤충에 대한 방어기작 뿐만 아니라 식물 노화에도 관여하는 식물 호르몬이다. Basic helix-loop-helix 전사인자인 *MYC2*는 JA의 신호전달반응의 핵심조절자 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 현사시나무에서 *MYC2* 유전자를 분리하고 발현특성을 조사하였으며, 다양한 환경 스트레스에 대한 내성을 갖는 임목을 생산하기 위하여 *MYC2*를 과발현시킨 현사시나무를 개발하였다. 포트에 식재된 *MYC2* 과발현 현사시나무는 대조구에 비해 잎 노화 표현형이 지연되는 특징을 보였으며, 엽록소 손실이 적은 것으로 나타났다. 또한 가을의 온도 및 광 주기 조건에서 *MYC2* 과발현 현사시나무의 광화학 효율을 측정할 결과 대조구보다 높은 특징을 보였다. 따라서 현사시나무의 *MYC2* 유전자가 낙엽이 지는 가을 동안에도 지속적인 생장을 가능하게 하여 임목의 바이오매스를 증진시키는데 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

References

- Abe, H, Urao, T, Ito, T, Seki, M, Shinozaki, K, Yamaguchi-Shinozaki, K (2003) Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. *Plant Cell* 15:63-78
- Babst BA, Ferrieri RA, Gray DW, Lerdau M, Schlyer DJ, Schueller M, Thorpe MR, Orians CM (2005) Jasmonic acid induces rapid changes in carbon transport and partitioning in *Populus*. *New Phytol* 167:63-72
- Chen, M, Maodzeka, A, Zhou, L, Ali, E, Wang, Z, Jiang, L (2014) Removal of DELLA repression promotes leaf senescence in Arabidopsis. *Plant Sci* 219-220:26-34
- Cheng Z, Sun L, Qi T, Zhang B, Peng W, Liu Y, Xie D (2011) The bHLH transcription factor MYC3 interacts with the Jasmonate ZIM-domain proteins to mediate jasmonate response in Arabidopsis. *Mol Plant* 4:279-288
- Chini A, Fonseca S, Fernández G, Adie B, Chico JM, Lorenzo O, García-Casado G, López-Vidriero I, Lozano FM, Ponce MR, Micol JL, Solano R (2007) The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling. *Nature* 448:666-671
- Choi YI, Noh EW, Lee HS, Han MS, Lee JS, Choi KS (2005) An efficient and novel plant-selectable marker based on organomercurial resistance. *J Plant Biol* 48:351-355
- Fernández-Calvo P, Chini A, Fernández-Barbero G, Chico JM, Gimenez-Ibanez S, Geerinck J, Eeckhout D, Schweizer F, Godoy M, Franco-Zorrilla JM, Pauwels L, Witters E, Puga MI, Paz-Ares J, Goossens A, Reymond P, De Jaeger G, Solano R (2011) The Arabidopsis bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses. *Plant Cell* 23:701-715
- Gan S, Amasino RM (1995). Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science* 270:1986-1988
- He Y, Fukushige H, Hildebrand DF, Gan S (2002) Evidence supporting a role of jasmonic acid in Arabidopsis leaf senescence. *Plant Physiol* 128:876-884
- Hortensteiner S (2006) Chlorophyll degradation during senescence. *Annu Rev Plant Biol* 57:55-77
- Hudgins JW, Christiansen E, Franceschi VR (2003) Methyl jasmonate induces changes mimicking anatomical defenses in diverse members of the Pinaceae. *Tree Physiol* 23:361-371
- Hudgins JW, Christiansen E, Franceschi VR (2004) Induction of anatomically based defense responses in stems of diverse conifers by methyl jasmonate: a phylogenetic perspective. *Tree Physiol* 24:251-264
- John I, Drake R, Farrell A, Cooper W, Lee P, Horton P, Grierson D (1995) Delayed leaf senescence in ethylene-deficient ACC-oxidase antisense tomato plants – molecular and physiological analysis. *Plant J* 7:483-490
- Kazan K, Manners JM (2013) MYC2: The Master in Action. *Mol Plant* 6(3):686-703
- Lee HS, Lee JS, Noh EW, Bae EK, Choi YI, Han MS (2005) Generation and analysis of expressed sequence tags from poplar suspension cells. *Plant Sci* 169:1118-1124
- Lee SH, Sakuraba Y, Lee T, Kim KW, An G, Lee HY, Paek NC (2015) Mutation of *Oryza sativa* CORONATINE INSENSITIVE 1b (*OsCOI1b*) delays leaf senescence. *J Integr Plant Biol* 57: 562-576
- Li Z, Peng J, Wen X, Guo H (2013) Ethylene-insensitive3 is a senescence-associated gene that accelerates age-dependent leaf senescence by directly repressing miR164 transcription in Arabidopsis. *Plant Cell* 25:3311-3328
- Lohman KN, Gan SS, John MC, Amasino RM (1994) Molecular analysis of natural leaf senescence in Arabidopsis thaliana. *Physiol Plant* 92:322-328
- Miller JD, Arteca RN, Pell EJ (1999) Senescence-associated gene expression during ozone-induced leaf senescence in Arabidopsis. *Plant Physiol* 120:1015-1024
- Niu Y, Figueroa P, Browse J (2011) Characterization of JAZ-interacting bHLH transcription factors that regulate jasmonate responses in Arabidopsis. *J Exp Bot* 62:2143-2154
- Oh SA, Park JH, Lee GI, Paek KH, Park SK, Nam HG (1997) Identification of three genetic loci controlling leaf senescence in Arabidopsis thaliana. *Plant J* 12:527-535
- Park JH, Oh SA, Kim YH, Woo HR, Nam HG (1998) Differential expression of senescence-associated mRNAs during leaf senescence induced by different senescence-inducing factors in Arabidopsis. *Plant Mol Biol* 37:445-454
- Pauwels L, Barbero GF, Geerinck J, Tilleman S, Grunewald W, Pérez AC, Chico JM, Bossche RV, Sewell J, Gil E, García-

- Casado G, Witters E, Inzé D, Long JA, De Jaeger G, Solano R, Goossens A (2010) NINJA connects the co-repressor TOPLESS to jasmonate signalling. *Nature* 464:788–791
- Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 29: 2002–2007
- Pourtau N, Mares M, Purdy S, Quentin N, Ruel A, Wingler A (2004) Interactions of abscisic acid and sugar signalling in the regulation of leaf senescence. *Planta* 219:765–772
- Quirino BF, Noh Y-S, Himelblau E, Amasino RM (2000) Molecular aspects of leaf senescence. *Trends Plant Sci* 5(7): 278–282
- Rowe HC, Walley JW, Corwin J, Chan EK, Dehesh K, Kliebenstein DJ (2010) Deficiencies in jasmonate-mediated plant defense reveal quantitative variation in *Botrytis cinerea* pathogenesis. *PLoS Pathog* 6: e1000861
- Schweizer F, Fernández-Calvo P, Zander M, Diez-Diaz M, Fonseca S, Glauser G, Lewsey MG, Ecker JR, Solano R, Reymond P (2013) Arabidopsis basic helix-loop-helix transcription factors MYC2, MYC3, and MYC4 regulate glucosinolate biosynthesis, insect performance, and feeding behavior. *Plant Cell* 25:3117–3132
- Shan X, Wang J, Chua L, Jiang D, Peng W, Xie D (2011) The role of Arabidopsis Rubisco activase in jasmonate-induced leaf senescence. *Plant Physiol* 155:751–764
- Sheard LB, Tan X, Mao H, Withers J, Ben-Nissan G, Hinds TR, Kobayashi Y, Hsu F-F, Sharon M, Browse J, He SY, Rizo J, Howe G, Zheng N (2010) Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor. *Nature* 468: 400–405
- Simpson RJ, Dalling MJ (1981) Nitrogen Redistribution During Grain Growth in Wheat (*Triticum aestivum* L.): III. Enzymology and Transport of Amino Acids from Senescing Flag Leaves. *Planta* 151(5):447–456
- Smart CM (1994) Gene expression during leaf senescence. *New Phytol* 126:419–448
- Thines B, Katsir L, Melotto M, Niu Y, Mandaokar A, Liu G, Nomura L, He SY, Howe GA, Browse J (2007) JAZ repressor proteins are targets of the SCF-COI1 complex during jasmonate signaling. *Nature* 448:661–665
- Thomas H, Smart CM (1993) Crops that stay green. *Ann Appl Biol* 123:193–219
- Weaver LM, Gan S, Quirino B, Amasino RM (1998) A comparison of the expression patterns of several senescence-associated genes in response to stress and hormone treatment. *Plant Mol Biol* 37:455–469
- Woo HR, Chung KM, Park JH, Oh SA, Ahn T, Hong SH, Jang SK, Nam HG (2001) ORE9, an F-box protein that regulates leaf senescence in Arabidopsis. *Plant Cell* 13:1779–1790
- Xie DX, Feys BF, James S, Nieto-Rostro M, Turner JG (1998) COI1: an Arabidopsis gene required for jasmonate-regulated defense and fertility. *Science* 280:1091–1094
- Yan Y, Stolz S, Chételat A, Reymond P, Pagni M, Dubugnon L, Farmer EE (2007) A downstream Mediator in the growth repression limb of the jasmonate pathway. *Plant Cell* 19: 2470–2483
- Yan J, Zhang C, Gu M, Bai Z, Zhang W, Qi T, Cheng Z, Peng W, Luo H, Nan F, Wang Z, Xie D (2009) The Arabidopsis CORONATINE INSENSITIVE1 protein is a jasmonate receptor. *Plant Cell* 21:2220–2236
- Yan Y, Christensen S, Isakeit T, Engelberth J, Meeley R, Hayward A, Emery RJ, Kolomiets MV (2012) Disruption of OPR7 and OPR8 reveals the versatile functions of jasmonic acid in maize development and defense. *Plant Cell* 24:1420–1436
- Yang J, Worley E, Udvardi M (2014) A NAP-AAO3 regulatory module promotes chlorophyll degradation via ABA biosynthesis in Arabidopsis leaves. *Plant Cell* 26:4862–4874
- Zhang K, Halitschke R, Yin C, Liu C-J, Gan S-S (2013) Salicylic acid 3-hydroxylase regulates Arabidopsis leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:14807–14812