

식물 유전자의 구조와 특성

이 중 섭
(서울대학교 자연과학대학 식물학과)

Molecular Characterization of Plant Genes

Lee, Jong Seob
(Dept. of Botany, Seoul National University, Seoul)

Abstract

Recent development of recombinant DNA techniques such as gene cloning and DNA sequencing has led to understanding of genetic information coded on plant genes and their application to crop improvements. Nuclear genes so far isolated and characterized at the molecular level from various plants are those involved mainly in photosynthesis, nitrogen fixation, seed development and defensive responses to environmental stresses. Most of plant genes contain intervening sequences (introns) flanked with GT and AG, as is typical of animal genes. The 5' flanking regions of plant genes revealed the presence of promoter elements such as TATAAA and CCAAT, which have been identified at animal genes to be involved in transcription initiation. The 3' untranslated regions include a sequence similar to AATAAA which functions as a polyadenylation signal in other eukaryotic genes. Furthermore, enhancer-type sequences were found at the 5' flanking regions of various plant genes. This indicates that the structure of plant genes is very similar to animal genes and mechanisms governing the synthesis and processing of mRNAs may be identical in higher eukaryotes. However, genes expression studies involving transformation revealed their differences within plants and between plant and animal systems.

서 론

19세기에 Mendel 법칙의 발견으로 식물형질의 전이방법이 밝혀진 이래 식물육종은 하나의 학문으로 발전하였다. 그 후 식물육종학자들의 지속적이고 집중적인

노력의 결과로 농작물 개량에 상당한 진전을 가져왔다. 그러나, 이제는 전통적인 식물육종 기법인 종내교배나 종간교배에 의한 품종개량은 한계에 도달하였고, 유용형질의 근원을 유연관계가 먼 다른 식물에서나 박테리아와 바이러스 등에서 찾지 않으면 안되게 되었으며, 더욱 이들 사이의 유용형질 전이방법의 개발이 요구되었다. 이와 같은 문제와 함께 재조합 DNA 기술의 출현은 상당한 관심을 불러 일으키고 있다.

지난 15년 전 이래 개발된 두 종류의 기본적인 혁신적인 유전공학기술인 유전자의 cloning 과 DNA sequencing 기술은 분자수준에서 유전자의 구조와 기능의 이해를 가능하게 해주고 있다. Cloning 에 의해 DNA 절편의 순수분리가 가능하고 sequencing 에 의해 이 DNA 절편을 이루고 있는 염기서열을 결정함으로써 추출된 유전자를 분석하여 특성을 규명할 수 있다. 재조합 DNA 기술을 이용하여 식물유전자를 cloning 하여 유전적 조절부호를 해독하고 유전자를 조작하여 식물에 재도입하여 발현을 연구함으로써 식물유전자의 발현조절기작을 규명할 수가 있을 뿐만 아니라 이러한 연구 결과 얻어진 정보를 응용하여 유용한 작물의 품종을 개량할 수 있다. 더 나아가서 유용형질을 결정하는 유전자를 식물계에서 뿐만 아니라 완전히 연관이 없는 생물(박테리아와 바이러스까지 포함)로부터 추출하고 도입함으로써 유용형질을 증진시키거나 완전히 새로운 형질을 부여할 수 있다. 전통적인 육종방법과 아울러 보다 새로운 방법을 집중적으로 개발하여 이용함으로써 농작물의 품종개량에 지대하게 공헌할 수 있다. 최근 식물에서 재조합DNA기술을 이용하여 여러 생명현상에 관여하는 많은 유전자들이 추출되어 그들의 구조가 결정되었고, 이들을 도입하는 방법이 개발되었다. 본 총설에서는 현재까지 광합성, 질소고정, 저장단백질과 환경적 자극에 대한 저항성의 분야에서 구조가 결정된 식물유전자를 조사하고 이들의 특성을 동물의 유전자와 비교 분석하고자 한다.

본 론

1. 광합성

광합성은 지구상에서 가장 중요한 반응으로 모든 생물은 고정되어 저장된 태양에너지에 전적으로 의존하고 있다. 광합성 과정에는 많은 단백질이 관련되어 있고 이들 중에서 암호화하는 유전자가 추출되어 구조가 밝혀진 단백질은 ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase-oxygenase와 chlorophyll a 와 b 에 결합하는 단백질 등이다.

Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase-oxygenase 는 Calvin cycle 에서 CO_2 고정에 관여하는 최초의 효소이며 Rubisco라고 불리워 진다. 이 효소는 8개의 large subunit(rbcL)와 8개의 small subunit(rbcS)로 이루어져 있는데, rbcL은 chloroplast에 존재하는 유전자에 의해, rbcS는 핵내 유전자에 의해 암호화 되어 있다. 고등식물에서 rbcS 유전자는 multigene family 로 존재하고, 단자엽 식물과 쌍자엽식물의 여러종에서 추출되어 구조가 밝혀 졌다. 단자엽식 물로는 wheat(Brogli *et al.*, 1983)와 Lemna(Stiekema *et al.*, 1983)에서 각각 한 개의 유전자가의 구조가 밝혀졌고, 쌍자엽식물로는 pea 에서 5개의 유전자 (Coruzzi *et al.*, 1984; Fluhr *et al.*, 1986)가, soybean에서 2개의 유전자(Grandbastien *et al.*, 1986)가 petunia 에서 6개의 유전자 (Tumer *et al.*, 1986; Dean *et al.*, 1987)가, tomato 에서 4개의 유전자 (Pichersky *et al.*, 1986) 가 *Nicotiana tabacum* (Mazur and Chui, 1985)와 *N. plumbaginifolia* (Poulsen *et al.*, 1986) 에서 각각 1개의 유전자가 추출되어 구조가 결정되었다. 이들 유전자는 빛에 의해서 전사단계에서 조절되고, 그 효과는

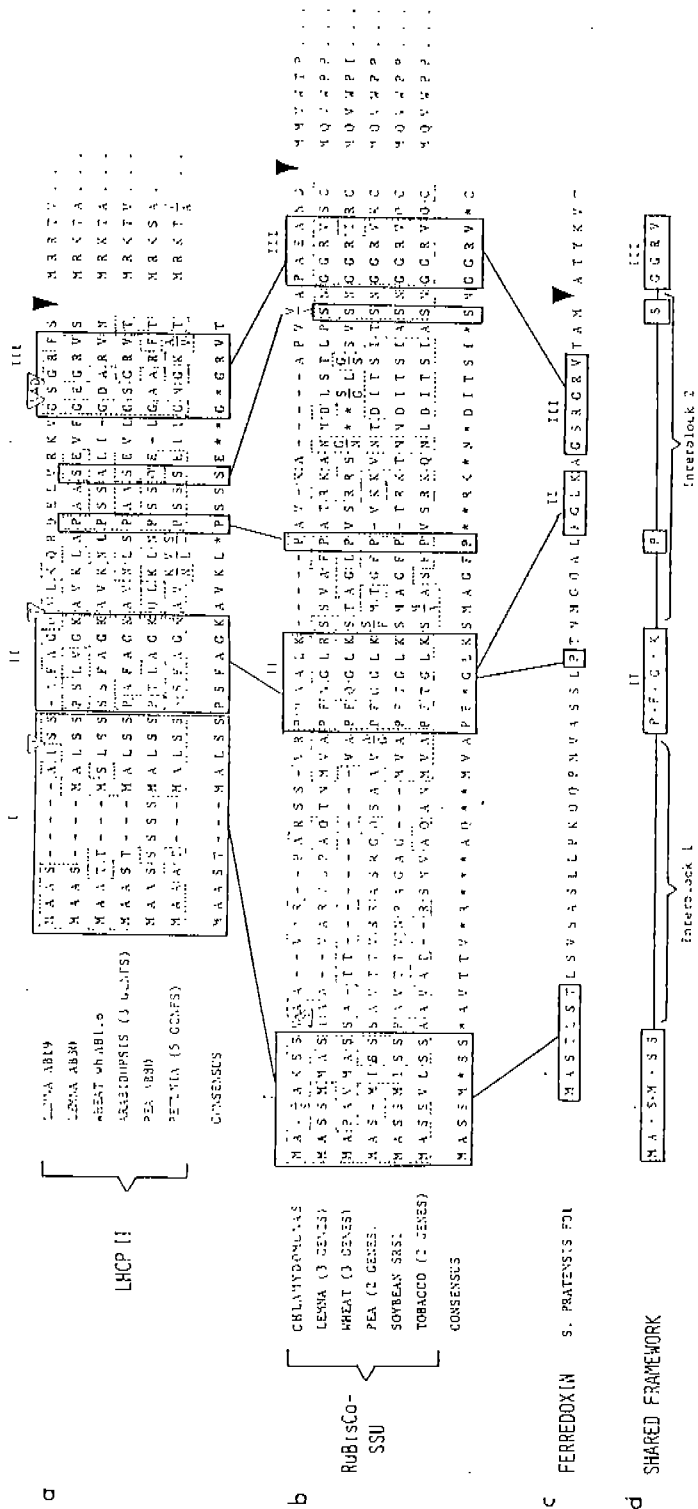


Fig. 1. Comparison of transit peptide sequences of nuclear-encoded proteins transported into chloroplasts. I, II and III denote the major homology blocks. For more details, see Karlin-Neuman and Tobin (1986).

phytochrome에 의해 매개된다고 알려져 있다. rbcS 는 peptide 를 간직하고 있어 cytoplasm에서 free ribosome에 의해 전구체로 합성되며, chloroplast 로 이동하는 과정에서 transit peptide 는 제거된다. 핵내에 존재하는 유전자에 의해 암호화되고 chloroplast 로 이동되는 단백질의 transit peptide 는 세 부 위에서 아미노산 상에 동질성을 보여주고 있다 (Fig.1; Karlin-Neumann and Tobin, 1986).

rbcS 유전자들은 coding 부위에서는 상당히 높은 동질성을 보여주는데 구조적 인 차이는 intron의 수에서 나타났다. Fig.2에서 보여 주는 바와 같이 rbcS 유전자의 intron의 수는 유전자에 따라 1 - 3개로 다양하며 각 intron 은 이들을 간직하고 있는 유전자에서 같은 위치에 존재하고 있다. 단자엽식물인 wheat 의 rbcS 유전자는 제1의 intron 만을 간직하고 있고, 쌍자엽식물 중에서 두과에 속하는 soybean과 pea 의 유전자는 제1과 제2의 두 intron에 의해 나뉘어져 있다. 가지과에 속하는 petunia 에서는 추출된 6개의 유전자 중에서 5개의 유전자는 제1과 제2의 intron 을, 그리고 다른 한 유전자는 이 외에 또 하나의 intron 을 더 간직하고 있다. 두 종의 *Nicotiana* 에서 추출된 유전자도 세개의 intron 에 나뉘어져 있었다. 그러나, 같은 가지과에 속하는 tomato 의 경우 추출된 4개의 유전자 모두 제3의 intron 을 간직하고 있지 않았다. 더 많은 rbcS 유전자가 다양한 식물에서 추출되어 구조가 밝혀져야 되겠지만 이러한 사실은 intron 이 진화과정에서 점차적으로 소멸되어 가는 것을 보여 준다.

광합성에 관계하는 유전자로 현재까지 추출된 다른 유전자는 chlorophyll a 와 b 에 결합하여 빛을 포획하는 복합체를 이루는 단백질(chlorophyll-a/b-binding protein)을 암호화하는 cab 유전자이다. cab 유전자는 단자엽식물인 wheat (Lamppa *et al.*, 1985)와 *Lemna*(Karlin-Neumann *et al.*, 1985)에서 각각 1개 의 유전자가, 쌍자엽식물인 pea 에서 1개의 유전자(Cashmore, 1984)가, petunia 에서 6개의 유전자(Dunsmuir, 1985; Stayton *et al.*, 1986)가, tomato 에서 8개의 유전자(Pichersky *et al.*, 1985)가, 그리고 *Arabidopsis* 에서 3개의 유전자(Leutwiler *et*

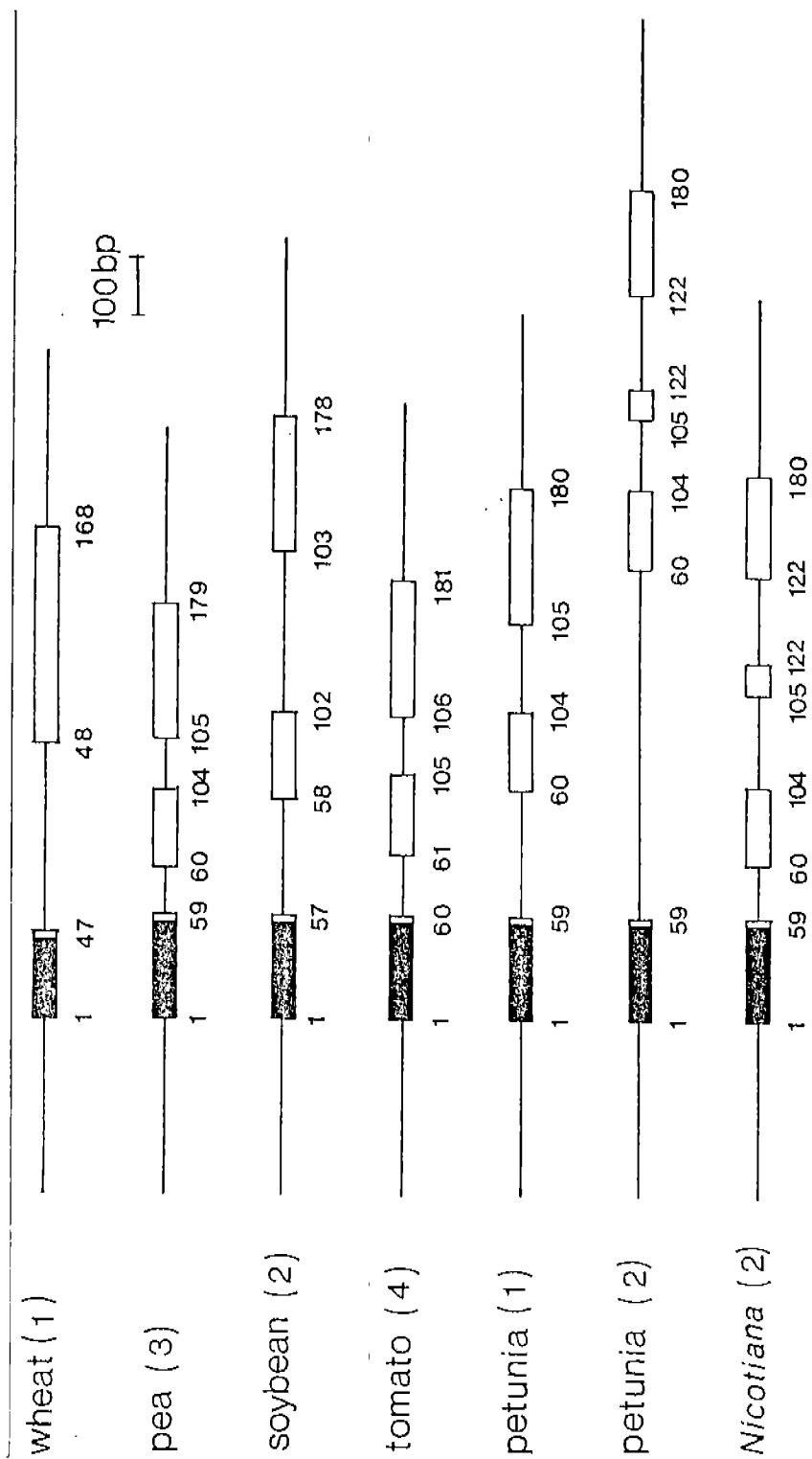


Fig. 2. Comparison of exon/intron structure of rbcS genes. Boxes represent relative lengths and positions of exons. The black area in each line indicates the transit peptide sequence. The codon numbers are indicated below each exon.

al., 1986)가 추출되어 구조가 밝혀 졌다. 이들 중에서 *Lemna* 의 유전자와 *petunia* 의 한 유전자(Stayton *et al.*, 1986) 에는 1개의 intron 이 존재하고 있고 그 밖의 유전자들은 intron 을 간직하지 않고 있으며, transit peptide 를 함유한 전구체로 합성되어 이 transit peptide는 *rbcS*와 부분적으로 동질성을 보여주고 있다(Karlin-Neumann and Tobin, 1986). *rbcS* 와 *cab* 유전자의 일부는 조작되어 식물 세포에 도입되었고, 도입된 식물체에서 도 원래와 같이 빛에 의해 발현이 유도됨이 관찰되었으며, 빛에 의한 발현 조절 에 관여하는 regulatory sequence 를 인식하기 위한 연구가 진행되고 있다 (Timko *et al.*, 1985; Simpson *et al.*, 1986 a, 1986b).

Chloroplast DNA 에는 *rbcL* 유전자 외에 120 개 이상의 유전자가 존재하고 있는데 tobacco (Shinozaki *et al.*, 1986) 와 liverwort (Ohyama *et al.*, 1986) 의 전 DNA (각각 155,844 bp 와 121,024 bp) 의 염기 서열이 알려져 있다.

2. 질소고정

식물의 생장은 어떠한 형태로든지 공급된 질소에 의존한다. 대기중의 질소를 환원할 수 있는 능력은 원핵생물에만 국한되어 있고, 극소수의 식물이 질소 고정 능력을 지닌 미생물과 공생관계를 유지함으로써 질소를 환원하여 이용하고 있다. 미생물과 공생관계를 유지하는 식물 중에서 많은 연구가 진행되고 있는 식물은 두과에 속하는 식물이다. 이들은 토양박테리아인 *Rhizobium* 과 상호작용하여 root nodule 이라는 특수한 조직을 발달시키고 대기중의 질소를 고정할 수 있는 root nodule 을 형성하기 위해서는 박테리아에서 뿐만 아니라 식물에서도 많은 유전자의 발현이 수반되어야 한다.

Root nodule 에서만 특이하게 합성되는 식물의 단백질을 nodulin 이라고 부르며, 이들은 nodule 의 구조를 형성하거나, 질소동화를 수행하는 효소로도 작용 하며, 또한

박테리아에서 질소환원이 효율적으로 행해지도록 지원해 주는 역할을 행한다(Fuller *et al.*, 1983). Nodulin은 soybean (Legocki and Verma, 1980), pea (Bisseling *et al.*, 1983), 그리고 alfalfa (Lang-Unnasch and Ausubel, 1985)에서 각각 약 20 여 종류가 존재하는 것으로 알려져 있다.

Nodulin 유전자들 중에서 가장 많은 연구가 진행된 유전자는 leghemoglobin (Lb) 유전자로써, soybean 에 존재하는 모든 유전자가 추출되어 그들의 구조가 밝혀 졌다(Brisson and Verma, 1982; Hydig-Nielsen *et al.*, 1982; Wiborg *et al.*, 1982). 이들 Lb 유전자는 Fig.3 에서 보여 주는 바와 같이 soybean 의 염 색체 상에 내부위에 위치하고 있음이 밝혀 졌다(Lee *et al.*, 1983). Lba locus 에 존재하는 Lb 유전자는 nodule 의 발생과정에서 발현시기가 다르고, 어린 nodule에서는 Lbc₃은 주로 발현되며 성숙한 nodule에서는 Lba가 주요 단백질이다. 이 사실은 nodule 의 발생과정에서 Lba locus 에 있는 Lb 유전자의 발현에 있어서 gene switching 이 일어난다는 것을 의미한다. Lbc₃ 유전자를 조작하여 도입한 후 재분화하고 *Rhizobium* 을

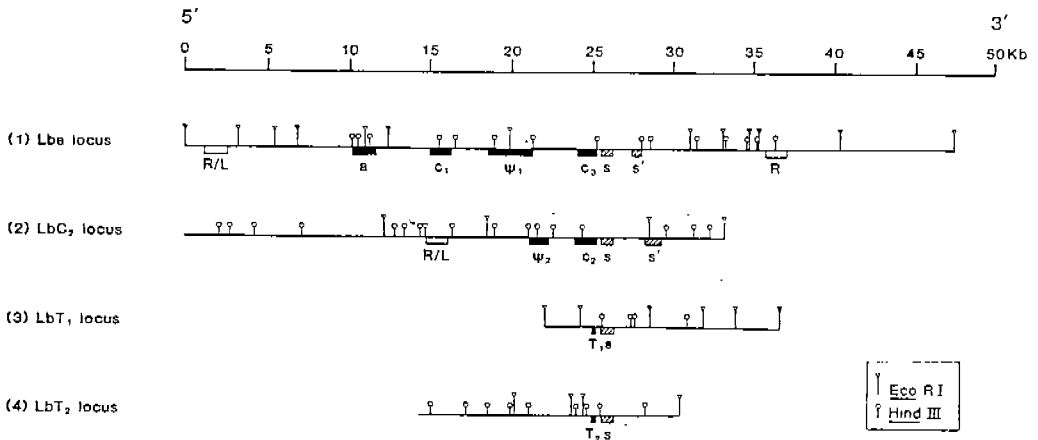


Fig. 3. Chromosomal arrangement of leghemoglobin genes in soybean. The EcoRI and HindIII restriction maps of regions carrying leghemoglobin sequences were derived from the detailed analysis of lambda clones of these regions of the chromosome. R and R/L are sequences expressed in root and root/leaf, respectively, S and S' are two repeat elements [see Lee *et al.* (1983) for more details].

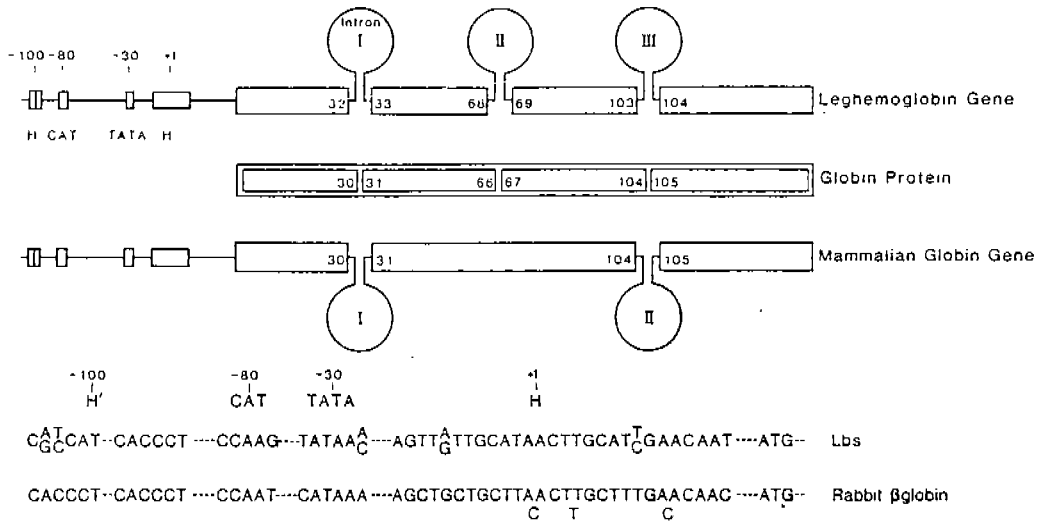


Fig. 4. Positions of the introns in leghemoglobins and globins in relation to the globin structural units and the presence of two homologous sequences (H and H') in the 5' region of these genes. For more details, see Lee and Verma (1984a).

전염시켜 형성한, 두과 식물인 *Lotus*의 nudule 에서 Lbc_3 유전자가 발견되었는데(Jensen *et al.*, 1986), 이 사실은 모든 두과식물에서 Lb 유전자의 발견유도 기작은 동일하다는 것을 지적해준다.

Lb 유전자는 구조와 염색체 배열상태에서 포유동물의 globin 유전자와 높은 유사성을 간직하고 있으며 이들 사이의 진화적 유연 관계에 관한 연구가 진행되었다(Lee and Verma, 1984a; Brown *et al.*, 1984). Fig.4에 나타낸 바와 같이 포유동물의 globin 유전자는 2개의 intron 을 간직하고 있는 반면, Lb 유전자는 이들 외에 intron 을 하나 더 포함하고 있어 식물의 globin 유전자가 원시적인 형태라고 추측된다. 이들 유전자는 5' flanking 부위에 유사한 여러 sequence 를 공유하고 있고 이들이 유전자 발현 조절에 관여하리라고 생각된다. Soybean 의 Lba locus 와 포유동물의 globin locus 에서 유전자의 배열상태를 비교했을 때도 이들 사이의 유사성이 관찰되었다(Fig.5). 다른 globin locus 에서와 같이 Lba locus 에서도 pseudogene 을 중심으로 다른 기능을

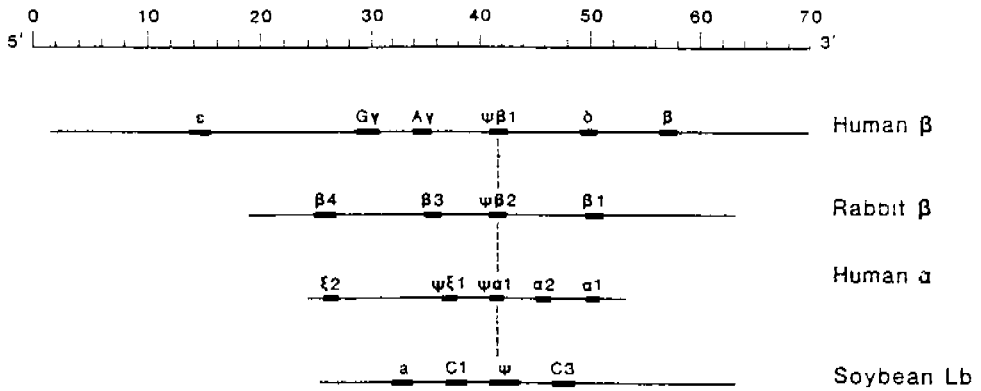


Fig. 5. Comparison of the organization of the leghemoglobin main locus with representative mammalian globin gene loci. The genes have been aligned for comparison. The direction of transcription is left to right and the scale is in kb.

행하는 유전자가 양쪽에 존재하고 있다. 이와 같이 식물과 동물의 globin 유전자 구조와 염색 체상의 배열상태에서 유사성을 간직하고 있다는 사실은 이들 유전자가 하나의 공통적인 원시 유전자에서 진화했으리라는 것을 암시한다.

식물의 globin 유전자는 또한 kidney bean (Lee and Verma, 1984 b) 과 비두과 식물로서 *Rhizobium* 과 공생에 의해 root nodule 을 형성하고 질소고정을 행하는 *Parasponia*(Landsmann *et al.*, 1986) 에서도 추출되었는데 3개의 intron 에 의해 soybean 유전자와 같은 곳에서 나뉘어져 있어 이들 사이에 진화적 유연관 계가 밀접함을 알 수 있다.

Lb 유전자 뿐만 아니라 다른 nodulin 유전자가 여러 두과식물에서 추출되어 분석되었다. Soybean 의 N-24 는 분자량이 24 KD 이며 root nodule 세포의 peribacte roid membrane 을 구성하고 (Katinakis and Verma, 1985), N-35 는 ureide 대사 에 관여하는 uricase 임이 밝혀졌다(Nguyen *et al.*, 1985). 그러나, N-23 (Mauro *et al.*, 1985), 그리고 N-22 와 N-20(Sandal *et al.*, 1987) 의 기능은 아직 알려져 있지 않다. Nodulin 유전자는 nodule 의 발달과정에서 거의 같은 시기에

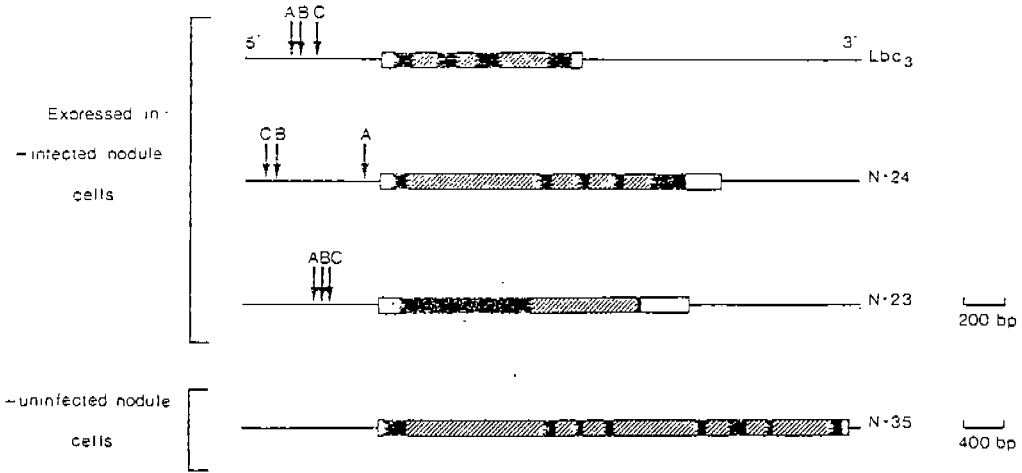


Fig. 6. General structure of four soybean genes induced in either infected or uninfected cells of nodules during symbiotic nitrogen fixation. The black areas indicate coding regions, hatched areas are introns, and open areas are non-translated regions of mRNA. Arrows A, B and C indicate consensus sequences potentially involved in regulation of these genes (Mauro *et al.*, 1985).

발현이 유도되므로 같은 기작에 의해 조절된다고 생각되며, 이들 유전자의 5' flanking 부위에서 nodulin 유전자의 조절에 관여하리라고 추측되는 sequence 가 발견되었다(Fig.6; Mauro *et al.*, 1985). 또한, kidney bean 에서 glutamine synthetase 유전자가 추출되어 구조가 밝혀졌다(Gebhardt *et al.*, 1986).

3. 저장단백질

식물의 저장단백질은 영양원으로서 경제적으로 중요할 뿐만 아니라 이들이 다량으로 존재하는 종자나 괴경과 같은 저장기관에서 유전자의 조직특이성과 발생학적 발현조절기작을 연구하기에 좋은 대상이 된다. 저장 단백질은 종자나 괴경과 같은 저장기관에 다량으로 축적되어 발아과정에서 분해되어 환원된 질소 원으로 사용되는 단백질로서 그들의 용해성에 따라 water에 녹는 albumin, salt 에 녹는 globulin, alcohol

에 녹는 prolamin 과 산이나 알카리 용액에 녹는 glutelin 의 4종류로 크게 나뉘어 진다.

두류와 곡류에서 저장단백질유전자는 여러 family로 존재하고 각 family 는 또한 소수의 유전자로 구성되어 있다. 저장단백질은 전구체로 endoplasmic reticulum 에서 합성되며, 여러 변형을 거치고 이동하여 protein body에 저장 된다(Higgins, 1984).

두류에서 주요 저장단백질은 salt 에 녹을 수 있는 globulin 으로 glycosylation 되어 있는 7S 와 그렇지 않은 11S 단백질로 나뉘어 지며, 서로 다른 식물에서도 같은 부류에 속해 있는 유전자는 이들 사이의 높은 동질성을 보여 준다. Soybean 의 종자에는 두 종류의 주요 저장단백질이 존재하는데 11S 는 glycinin, 7S 는 conglycinin 이라고 불리우며, 이들외에 trypsin inhibitor 와 lectin 이 상당량 존재하고 있다. 현재 glycinin 의 한 유전자(Marco *et al.*, 1984)와 B-conglycinin 의 한 유전자(Schuler *et al.*, 1982) 의 구조가 알려져 있으며, lectin 유전자의 구조도 밝혀져 있다(Vodkin *et al.*, 1983). β -conglycinin 유전자는 도입된 petunia의 embryo 에서만 발생과정에서 발현되어 축적되는 것이 관찰되었다(Beachy *et al.*, 1985).

French bean 의 7S 단백질은 phaseolin 이라고 불리며 여러 유전자들 중에서 하나의 유전자의 구조로 밝혀 졌는데(Slightom *et al.*, 1983), 이 유전자는 soybean 의 β -conglycinin 유전자와 아미노산서열에서 뿐만 아니라 DNA 서열에서도 상당한 동질성을 보여 주었다(Doyle *et al.*, 1986). Pea에서는 vicilin, convicilin과 legumin의 3종류의 주요 저장단백질이 존재하고, 11S 인 legumin 의 유전자가 추출되었다(Lycett *et al.*, 1984; 1985).

곡류의 저장단백질은 거대한 gene family 에 의해 암호화되어 있고 대부분이 alcohol에 녹는 prolamin 에 속한다. Wheat 에는 gliadin 과 glutenin 의 두 family 가 존재하고 gliadin 을 암호화하는 여러 유전자들 중에서 한 유전자가 추출되었다(Anderson *et al.*, 1984). Glutenin 은 wheat 의 배젖에 존재하는 단백질 중에서 가장 많고 종자의 총 단백질의 10% 를 차지하며 여러번 반복적으로 존재하는

peptide repeat로 구성되어 있다(Sugiyama *et al.*, 1985). Barley 에서는 sulfur 가 많이 함유된 B-hordein 과 sulfur 가 적은 C-hordein 이 총저 장단백질의 95% 를 차지하며 이들은 서로 동질성을 유지하고 있어 같은 유전자 에서 진화했다고 추측된다(Forde *et al.*, 1985a; 1985b). Maize 의 저장단백질 은 zein 이라고 불리우며 총배젓단백질의 80% 를 차지한다. Zein 은 여러 class 로 나눌 수 있고 각각은 또한 10 - 15 개의 유전자에 의해 암호화되어 있으며 이들 중에서 19Kd 와 2Kd 의 단백질이 주류를 이루고 있고 (Petersen *et al.*, 1982), sunflower 에 도입되어 발현되었다(Goldsbrough *et al.*, 1986). 곡류 에서 저장단백질은 특이한 peptide repeat 가 여러번 반복적으로 존재하고 있다 (Table 1).

Table 1. Peptide repeats in cereal storage proteins

maize glutelin	Pro-Pro-Pro-Val-His-Leu
wheat glutenin	Pro-Gln-Gln-Pro-Gly-Gln
wheat glyadin	polyglutamine
barley horden	Pro-Gln-Gln-Pro-Phe-Pro-Gln-Gln
maize zein	Gln-Gln-Leu-Leu-Pro-Asn

두류와 곡류 외에도 potato tuber에 존재하는 저장단백질인 patatin 의 유전자가 추출되어 구조가 밝혀졌다(Rosahlet *al.*, 1986; Bevan *et al.*, 1986).

4. 주위의 자극에 대한 반응

식물의 정상적인 생장과 발달을 저해하며 작물에서 식량의 질과 수확량을 낮추기도 한다. 여기에서는 식물이 고온과 혐기성 자극, 그리고 상처의 영향을 받을 때

이들로부터 식물자신을 보호하기 위해 발현되는 유전자들에 관하여 조사하고자 한다.

1) 고온자극

대부분의 생물은 주위의 온도가 고온으로 변할 때 이로부터 자신을 보호하기 위하여 여러 종류의 단백질을 합성한다. 고온자극을 받을 때 특이하게 합성이 유도되는 단백질을 heat shock protein (hsp)이라고 부르는데 hsp가 합성되는 것이 최초로 *Drosophila* 에서 관찰되었고, 식물에서는 pea(Barnett *et al.*, 1980), tobacco(Altschuler and Mascarenhas, 1982), tomato(Sharf and Nover, 1982), maize(Rochester *et al.*, 1986)와 soybean(Key *et al.*, 1981 ; Schoffl *et al.*, 1984; Czarnecka *et al.*, 1985)에서 연구되었다. hsp 는 분자량에 따라 68 - 104Kd 의 거대단백질, 20 - 33Kd의 중간단백질, 그리고 15 - 18Kd 의 소형단백질의 세 group 으로 나뉘어지며 이들은 모두 고온자극에 의해 동등하게 발현된다. 이들 세 group 중에서 15 - 18Kd 의 hsp는 식물에서만 존재하는 것으로 알려져 있다. 아직까지 hsp 의 정확한 기능은 규명되지 않았으며 정상적으로는 치명적인 온도에서 살아 남기 위한 방법으로 합성하는 것으로 추측된다.

여러 식물중에서 soybean 의 hsp 18 유전자 (Shoffl *et al.*, 1984)와 hsp 17.5 유전자(Czarnecka *et al.*, 1985)가, maize의 hsp 70 유전자(Rochester *et al.*, 1986)가 추출되어 그들의 염기서열이 결정되었고, maize 의 hsp 70 유전자는 *Drosophila* 의 hsp 70 유전자와 염기서열에서 70% 의 동질성을 간직하고 있다. 식물의 모든 hsp 유전자는 TATA box(Breathnach and Chambon, 1981) 외에 *Drosophila* 의 유전자에서 고온에 의한 유전자발현에 관여하는 heat shock consensus regulatory element(CT-GAA--TTC-AG) 에 유사한 sequence를 포함 하고 있었다(Fig.7). 더욱 *Drosophila*의 hsp 70 유전자를 조작하여 tobacco 에 도입하였을 때 고온에 의해 이

Position	Soybean hs6871	Homology
- 276	<u>CccGAAAcTTCtAGt</u>	90%
- 245	<u>CcaGAAtgTTtctGg</u>	70%
- 234	<u>CTgaAAgtTTCagaa</u>	70%
- 225	<u>tcaGAAaaTTCtAGt</u>	80%
- 173	<u>CaaGgActTTCtcGa</u>	70%
- 163	<u>CTcGAAagTAcTAta</u>	80%

Proposed Soybean hs6871 Promoter

5' ..CAAGGACTTTCTCGAAAGTACTATA...17bp...TTTAAATA...20bp...
 doublet of overlapping 'hs consensus promoter elements' TATA-box mRNA start

Fig. 7. DNA sequences of heat-shock promoter elements upstream from soybean hs6871. Homology of potential soybean elements refers to the symmetrical consensus sequence (underlined) of *Drosophilla* hs genes (Schoffl *et al.*, 1984).

유전자의 발현이 유도된 사실은 동물과 식물에서 heat shock 반응이 같은 기작에 의해 유도된다는 것을 의미한다(Spena and schell, 1987).

2) 혐기성 자극

식물은 혐기성상태로 전환시키면 단백질합성의 양상에 급격한 변화가 일어난다. 호기성상태에서 만들어 지던 단백질의 합성은 중지하고 선택적으로 새로운 단백질의 합성이 시작되는데 이것은 홍수에 대한 식물의 타고난 반응으로 여겨진다. 식물의 혐기성 반응에 관한 연구는 maize 의 alcohol dehydrogenase (ADH) system 을 가지고 주로 수행되었다. Maize에는 Adh1 과 Adh2 의 두 유전자가 존재하며 이들은 염기서열에서 82% 의 동질성을 간직하고 있다(Dennis *et al.*, 1984; 1985). ADH 단백질은 dimer 로 기능을 행하며 homodimer 나 heterodimer 나 모두 활성을 지니고

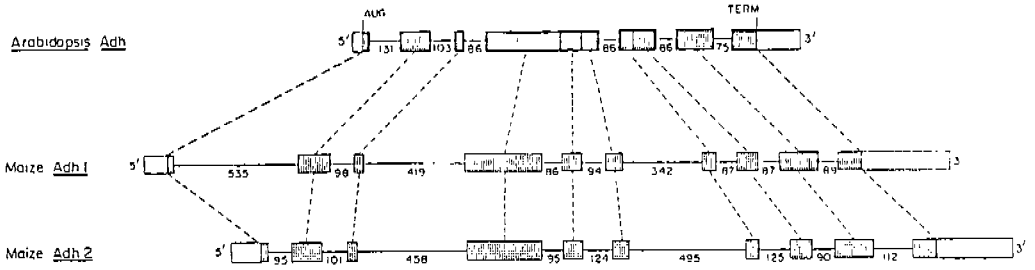


Fig. 8. Comparison of exon/intron structure of *Arabidopsis* adh and maize adh genes. Boxes represent relative lengths and positions of exons; shaded portions designate protein-coding regions of exons. Solid lines represent relative positions of introns that are at identical positions in all three genes with respect to the protein sequence; the number below each line gives the length of the intron in nucleotides. Dashed lines connect homologous exons.

있다. *Arabidopsis* 에서 ADH 유전자는 하나의 copy 로 존재하고 coding 부위에서 maize 의 Adh1 과는 73%, Adh2 와는 72% 의 동질성을 보여 주었다(Chang and Meyerowitz, 1986). 그러나, Fig.8 에서 보여준 바와 같이 intron 수는 서로 달랐는데 *Arabidopsis* 유전자에서 3개의 intron 이 선택 적으로 제거된 것으로 추측된다.

3) 상처

식물은 병원균이나 해충의 공격에 대하여 타고난 저항성을 나타낸다. 식물의 유도성 저항반응의 예로써 fungus에 대한 항생물질인 phytoalexin 의 생성, hydroxyproline-rich glycoprotein (HRGP), lignin 류의 물질이나 phenol 화합물 의 상처부위 세포벽에의 축적, 가수분해효소의 활성화, 단백질분해효소 억제제의 합성유도 등이 있다(Sequeira, 1983). HRGP 와 단백질분해효소 억제제는 상처에 의해 합성이 유도되는 단백질로 알려져 있다.

고등식물에는 extensin, arabinogalactan 과 가지과의 lectin 의 적어도 세 부류의 HRGP 가 존재하며 이 중에서 extensin 에 관해 많은 연구가 행해 졌다. Extensin 은

쌍자엽식물의 세포벽에 다량으로 존재하며 ER 에서 합성되고 Golgi apparatus 에서 glycosylation 을 겪은 후 세포막으로 분비되어 불용성화 한다. Extensin 은 식물세포벽 구성에 중요한 역할을 하며 따라서 생장조절에 관여하 리라고 추측된다. 또한, extensin 은 상처부위나 병원균의 공격을 받은 부위의 세포벽에 축적이 일어나므로 식물의 방어계에도 관여한다고 생각된다. Carrot 에서 extensin 유전자는 3'의 noncoding 부위에 하나의 intron 을 간직하고 Ser-Pro-Pro -Pro 의 peptide 가 25번이나 반복되어 있고 이 peptide 에서 proline 은 hydroxylation 되어 있다(Chen and Varner, 1985).

Tomato 나 potato 의 잎에 곤충에 의해서나 기계적으로 상처를 주었을 때 상처를 입은 잎에서 뿐만 아니라 같은 식물체의 상처를 입지 않은 잎에서도 단백질분해효소 억제제인 inhibitor I 과 II 의 축적이 일어난다. 상처에 의한 inhibitor 단백질의 합성유도는 상처부위에서 유리되어 도관계를 통하여 이동하는 단백질분해효소 억제제의 유도인자(PIIF) 에 의해 일어난다고 알려져 있다. PIIF 의 활성을 간직하는 물질은 DP(Degree of Polymerization) 가 2 - 6 인 oligosaccharide 로서 순수하게 분리되어 구조가 밝혀 졌다(Bishop *et al.*, 1984). Inhibitor I 과 II 단백질은 chymotrypsin 이나 trypsin 과 같은 serine endopeptidase 의 기능을 억제한다. 따라서 곤충이 식물을 공격할 때 잎에서 합성하여 축적함으로써 잎의 영양가를 감소시켜 자신을 보호하는 식물의 방어계 의 일환으로 inhibitor 단백질이 합성된다고 여겨진다. 현재 tomato 에서 inhibitor I 유전자(Lee *et al.*, 1986)와 potato 에서 inhibitor II 유전자(Keilet *al.*, 1986)가 추출되어 구조가 밝혀 졌다. Tomato 의 inhibitor I 유전자는 2개의 intron 에 의해 나뉘어져 있고, pre-proprotein 으로 합성되어 변형을 거쳐 mature protein 이 되고 central vacuole 에 이동하여 축적된다. 이 유전자의 5' flanking 부위에는 TATA 와 CAAT box 외에 상처에 의한 조절에 관여하리라 여겨지는 약 100 bp 의 sequence 가 2번 반복되어 있다. Potato 의 inhibitor II 는

proprotein 으로 합성되며 1개의 intron 에 의해 나뉘어져 있고 inhibitor I 유전자와는 coding 부위에서 뿐만 아니라 5' 과 3' 의 주변에 서도 팔목할 만한 동질성을 지닌 sequence 는 발견되지 않았다. 따라서 이와 같이 상이한 두 유전자가 어떻게 같은 기작에 의해 발현이 조절되는지는 분명치 않다.

5. 식물유전자의 특성

진핵생물의 여러 유전자의 염기서열을 비교해 봄으로써 전사와 해독의 시작과 1차 전사체의 변형에 관여할 것으로 생각되는 signal sequence 를 인식할 수 있다. 동물의 경우에 분자생물학적인 연구가 식물에 비해 일찍 시작되었기 때문에 보다 많은 유전자가 추출되어 구조가 밝혀져 있고 많은 signal sequence 들이 알려져 있다. 여기서는 동물유전자에서 발견되어 발현조절에 관여할 것으로 추정되는 sequence 가 식물에도 존재하는가를 조사하고자 한다.

1) Intervening Sequences

다른 진핵생물의 유전자와 같이 대부분의 식물유전자도 intervening sequence 에 의해 coding 부위가 나뉘어져 있으며 intervening sequence 는 항상 GT 로 시작하여 AG 로 끝난다(Brown, 1986). Fungus 나 동물의 유전자의 splicing 과정에서 lariat form 이 형성되는 branch point sequence 도 식물유전자에서 비슷한 위치에서 발견되었다(Table II). 이와 같이 모든 진핵생물유전자의 exon 과 intron 의 junction 에 존재하는 2개의 nucleotide 와 branch point sequence 가 보존된 것은 비슷한 splicing 기작에 의해 intron 이 제거된다는 것을 암시한다.

식물유전자에서 intron 의 수는 동물유전자에 비해 상대적으로 적다. 식물의

Table 2. Comparison of splice junction and possible branch sequences between plant and animal introns

	exon/intron	branching point	intron/exon
plant	$\begin{matrix} C \\ A \end{matrix} \text{AG/GTAAGT}$	$\begin{matrix} T & T & C \\ \text{Pu} & \text{Pu} & \text{T} \end{matrix} \text{TPuAPy}$	$\text{TTT} \begin{matrix} T \\ \text{Pu} \end{matrix} \text{TT} \begin{matrix} T & T & T & T \\ \text{Pu} & \text{Pu} & \text{Pu} & \text{Pu} \end{matrix} \text{TGCAG/G}$
animal	$\begin{matrix} C \\ T \end{matrix} \text{AG/GT} \begin{matrix} A \\ G \end{matrix} \text{AGT}$	CTPuAPy	$\begin{pmatrix} T \\ C \end{pmatrix}_{11} \text{TNCAG/G}$

저장단백질의 유전자를 예로 들면 maize 의 zein 유전자에는 intron 이 존재 하지 않고 French bean 의 phaseolin 유전자는 5개의 intron 을 간직하고 있는 면에 chicken 의 ovalbumin 유전자는 7개의 intron 을, 그리고 vitellogenin 유전자는 33개의 intron 을 간직하고 있다.

2) Poly(A) 첨가신호

지금까지 연구된 대부분의 동물유전자는 poly(A) tail 로부터 약 10 - 33 base 앞부위에 위치한 AATAAA sequence 를 간직하고 있다. 이 sequence 는 polyadenylation 이 일어나지 않은 histone 유전자에서는 발견되지 않았고, 이 sequence 를 제거시키거나 변형시키면 3' 의 절단 효율이 상당히 감소된다. AATAAA sequence 는 poly(A) tail 을 첨가해 주는 위치를 결정해 주는 역할을 행한다고 믿어진다.

식물유전자에도 이와 같은 poly(A) 첨가신호가 존재하지만 동물유전자에 비해 다양한 형태로 존재한다(Heidecker and Messing, 1986).

3) ATG initiation codon

조사한 모든 식물유전자는 initiation codon 으로 ATG 를 사용하고 있었고 다음

codon 까지 유사성을 나타내 주고 있다(Fig.9).

4) TATA box

전사의 시작에 중요한 역할을 할 것으로 생각되는 sequence 중에서 가장 잘 알려진 sequence 가 TATA box (TATAAA) 이다. 이 sequence 는 *in vitro*와 *in vivo* 상태에서 진핵생물유전자가 정확한 위치에서 전사되도록 한다. 다른 진핵생물에서와 마찬가지로 식물에서도 단백질을 암호화하는 유전자는 RNA polymerase II 에 의해 전사되므로 TATA box 를 간직하고 있다. TATA box 는 전사시작점 (cap site) 으로부터 약 30bp 앞에 존재하는데(Fig.9) 이는 동물유전자에서 발견된 것과 유사한 거리로써 식물 유전자에서도 TATA box 는 전사시작점을 지시해 주는 역할을 행한다는 것을 암시해 준다.

5) CAAT box

동물유전자에서 전사조절에 관여하는 다른 sequence 로 GG(C/T)CAATCT 혹은 CAAT box 가 알려져 있다. 이 sequence 는 cap site 로부터 약 80 bp 앞부위에 존재하며 rabbit 의 {beta}-globin 유전자는 *in vivo* 상태에서 CCAAT 를 제거했을 때 전사수준이 현저히 감소되었다(Grosueld *et al.*, 1982).

식물의 많은 유전자에서 동물유전자에서와 같이 전형적인 CAAT box 가 발견되었으나 다른 여러 유전자는 이 부위에서 낮은 정도로 동질성을 보여 주며 cap site 에서의 거리도 일정치 않다(Fig.9). 이를 근거로 하여 Messing *et al.* (1983) 은 식물유전자에 독특한 AGGA box 를 제안했다. (G/T)NG 의 세 nucleotide 주위에 adenine 을 함유하고 있는 AGGA box (C/TA₂₋₅ G/TNGA₂₋₅ hC/TC/T)는 여러

gene name	CAAT box	TATA box	cap site	translation start	references
pea rbcS E9	TGGCCAACTACCACAA--(36)--ACATTTATATAAGGCAA--(10)--AAGCTTTGCAATTCAA--(20)--AGAAAAAATGGCTTCT				Coruzzi et al., 1984
3A	GTACCACATTAATAG--(29)--ACATTTATATAGCAA--(10)--AAGCTTTGCAATTCAT--(7)--GAGAAAAATGGCTTCT				Fluhr et al., 1986
3C	CAACCATTGGTACT--(21)--ACATTTATATAGCTA--(12)--ACCTTAATATATAC--(0)-----AACAAATGGCTTCC				Fluhr et al., 1986
N. P. rbcS	AATCCAATGGTACT--(55)--TCATTTATATAGAGT--(10)--GATGCATAGACGATC--(60)--TTAACAATGGCTTCC				Poulsen et al., 1986
petunia rbcS ss8	AATGCAATGGTACT--(62)--TCATTTATATAAGGG--(13)--ACAAAAGTCAGTGTGA--(49)--TTAACAATGGCTTCC				Tumer et al., 1986
ssu11	AATCCAATGGTACT--(35)--CTATTTATATAGTAA--(11)--AGATTGGATATCTGGC--(34)--GAAGCAATGGCTTCC				Tumer et al., 1986
soybean rbcS	TCGCCAACTAGCCATA--(27)--CTGGCATATAAATACA--(9)--TACAAAATCAGCATTC--(54)--ATACAGGATGGCCGA				Granchastien et al., 1986
pea cab	AATCCAATGGTAAAT--(40)--TATCCCTATATAATGC--(15)--GTTTTAATCAGTCTAA--(35)--AGTTTCAATGGCCGCC				Cashmore, 1984
Arabidopsis cab	AATCCAATGGTAAAT--(52)--TTTTCAATATAATCC--(10)--AGCAATATAGCAGAAA--(66)--GGTTFAGATGGCAACT				Leutwiler et al., 1986
petunia cab	ATAGCAATGGTAAAT--(60)--CTTCTATATAAATAG--(14)--TTGTTGCATAACTTGC--(35)--AAGAAATATGGCTTCC				Strayton et al., 1986
soybean lbc ₃	GTTCGAAATTTTTTA--(27)--TTTTTGTATAAATATC--(9)--ATGAGATATAATCATG--(55)--GTAATTAATGGAGAA				Brisson and Verma, 1982
N25	AAATCAAATGGTAAAT--(50)--CACACATATAATAGG--(1)-----CGAAAACCTGATATAGT--(50)--CGAAAAGATGGCTCAG				Mauro et al., 1985
N35	TGTCGAAATGGTAAAT--(38)--CTTCTGATAAATTAG--(14)--GTTTCCGGCATGCAAA--(19)--TCTCTTCATGGCTTAG				Nguyen et al., 1985
pea legumin	TGCCAAATTCGCAACA--(29)--AATACCTATAAATACC--(13)--ACTTCTTTCATCATCC--(64)--CTCTACTATGATGAGA				Lycett et al., 1984
Phaseolus phaseollin	ATGCCAATTCGCAACA--(12)--GGCAACTATAAATAGG--(25)--TCATGCAATCTCTCA--(34)--ATCCACCATGAAAGCC				Slightom et al., 1983
wheat gliadin	CAACCGAATTCGCAACA--(65)--GTTCCCTATAAAGAAA--(14)--AATCTTTCATCATCC--(44)--CACCGAATGGCAGCC				Anderson et al., 1984
glutenin	AACACAAATTCGCAACA--(32)--GGCTACTATAAATAGG--(10)--AGAGATTCATCACAAG--(38)--ATCCACCATGAAAGCC				Sugiyama et al., 1985
barley 8-hordein	ATAGCAATTCGCAACA--(65)--GATGTGATAAATATC--(9)--AGCTAATAATGCGAC--(44)--ACCAATAATGGCAGCC				Forde et al., 1985
maize zein	CATACAACTTTTATG--(39)--CGTGAATATAATAGC--(8)--TATATGTTCAAGCAG--(51)--CTGCAAAAATGGCAACT				Petersen et al., 1982
potato patatin	CGCCCAACCCGACCC--(39)--CCACTATAAATCAG--(19)--CACAGGCTCATCTGC--(85)--GGGGGCAATGGCGCC				Rosahl et al., 1982
maize adh1	GGTCCAGGGTTCCTT--(25)--TAGCAGTATAATACA--(15)--TCTTCTCAGCAACT--(113)--GCAAGCAATGGCGAGC				Dennis et al., 1984
adh2	ATTTCATAAAGAGTA--(55)--CTGCTATAAATAGC--(12)--TCTTTTCTAGATCAG--(43)--GTTGATAATGCTCAGC				Dennis et al., 1985
soybean hsp17.5	CAACCAATTCGCAACA--(38)--ACTGCTTTAAATACC--(12)--TTGGCTCTGCTCAAC--(78)--CGAAAAGATGCTCTCG				Chang and Meyerowitz, 1986
hsp17.3	TTTTTCAGAAAGTAGCCG--(50)--CATCATTTTAAATCAA--(9)--CTTTGAGAGACACATCA--(98)--AGAGAAAATGCTCTCG				Czarnicka et al., 1985
maize hsp70	ACCCCAATTCGCAACA--(38)--GTCTCAATAAATACC--(15)--TGTGCTCTGCTCTCG--(93)--GGAAAGATGGCAGAG				Schoffl et al., 1984
carrot extensin	GTACGATTAATGAAA--(25)--CAAGGCTATAAATAGA--(13)--TTGAAGCATATACACA--(35)--AGTAAACAATGGGAGA				Rochester et al., 1986
tomato inhibitor I	ACACCACTAGTAGTA--(29)--TTGGCTATAAATTTG--(13)--TAGAAAATGACTCAAT--(21)--AAGCAAAAATGGAGTCA				Chen and Varner, 1985
potato inhibitor II	TTATCCAAATTAATA--(62)--GTTTCTATAAATAGG--(10)--CAGACACTCTTCAAGC--(36)--ATCCATGCAATGTT				Lee et al., 1986
Keil et al., 1986					Keil et al., 1986
Plant consensus	CCAAAT	$\begin{matrix} C & T & A & T & A & T & A & T \\ A & & & & & & & \end{matrix}$	$\begin{matrix} C & T & C \\ T & C & C \end{matrix}$	MMNNKTKGGCT	
animal consensus	GG $\begin{matrix} C & C & A & A & T & C & T \end{matrix}$	G-GTAT $\begin{matrix} A & A & G \\ T & T & G \end{matrix}$ -G--	PAPPPP Y'YYY	CCACCATGG	Breathnach and Chambon, 1981

Fig. 9. Comparison of potential regulatory sequences observed at the 5' flanking regions of plant genes. The numbers in parentheses are the distance in base pairs between these potential regulatory regions. Consensus sequences are listed at the bottom of the figure.

유전자에서 cap site로부터 70 - 80 bp 앞부위에 존재하고 있으나 서로간의 유사성 정도는 아주 낮다. Pea 의 rbcS 유전자에서 CAAT box 와 AGGA box를 포함하고 있는 부위를 제거시켰을 때도 전사수준이 변하지 않았는데(Morelli *et al.*, 1985) 이 사실은 이들 sequence 가 petunia 의 callus 에서 rbcS 유전자의 발현에 요구되지 않는다는 것을 의미하는 것 같다.

6) Enhancers

동물유전자에서 TATA 와 CAAT box 와 같은 promoter element 외에 전사의 수준을 높이는 enhancer 가 인식되었다. Enhancer 는 promoter element 와는 달리 방향에 관계없이 먼 거리에서나 3' 부위에서도 기능을 행하며 SV40 유전자와 immunoglobulin 유전자 등에서 발견되었다. 동물유전자의 enhancer 와 같이 작용하는 sequence 가 pea 의 rbcS 와 전사(Fluhr *et al.*, 1986)와 cab 유전자 (Simpson *et al.*, 1986) 에서 발견되었다. 이들 sequence 도 방향에 관계없이 빛에 의한 조절에 관여하는 것으로 알려졌다.

7) 동식물 유전자의 비교

전술한 바와 같이 동물유전자와 식물유전자는 구조적으로 상당히 유사하므로 동물과 식물에서 전사조절과 RNA processing 이 유사한 기작에 의해 행해질 것 이라고 예상할 수 있다. 그러나, 유전자 도입과 발현의 초기 실험결과는 이들 사이의 많은 차이를 보여주고 있다. Chicken 의 α -actin 유전자를 tobacco 세포에 도입시켰을 때 발현되지 않았으며 ovalbumin 유전자도 전사가 chicken 에서와 같은 곳에서 일어나지 않았다(Koncz *et al.*, 1984). 또한 human growth hormone (hGH) 유전자를 tobacco

와 sunflower 에서 발현시켰을 때 hGH 유전자 자신의 promoter로는 전사되지 않았고 식물유전자의 promoter를 사용하여 전사를 유도했을 때도 RNA splicing 이 효율적으로 일어나지 않았고 poly(A) 의 첨가도 원래의 위치에서 일어나지 않았다 (Barta *et al.*, 1986; Hunt *et al.*, 1987). 이와 같은 결과는 적어도 어떤 동물 유전자는 RNA splicing 과 poly(A) 첨가 신호가 식물유전자와 다르다는 것을 의미한다.

쌍자엽식물과 단자엽식물의 유전자에서도 이러한 차이가 관찰되었다. Kidney bean 의 phaseolin 유전자(Sengupta-Gopala *et al.*, 1985)와 soybean 의 '82 coconglycinin 유전자(Chen *et al.*, 1986)은 쌍자엽식물인 sunflower 와 tobacco 에서 종자의 발생과정에서 적절히 발현이 조절되었다. 또한 단자엽식물 인 wheat 의 cab 유전자가 tobacco 에서 적절히 전사되었고 (Lamppa *et al.*, 1985) maize 의 zein 유전자도 sunflower 에서 적절히 발현되었다 (Goldsbrough *et al.*, 1986). 이들 유전자는 모두 intron 을 간직하고 있지 않다. 그러나, 최근에 쌍자엽식물에서 단자엽식물의 유전자의 전사와 intron 제거 및 poly(A) 첨가가 정확하고 효율적으로 일어나지 않음이 보고되었다(Keith and Chua, 1986). Wheat 의 rbcS 유전자를 tobacco 에 도입하였을 때 자신의 promoter 에서 발현되지 않았을 뿐만 아니라 CaMV 의 35S promoter 에 연결하여 발현을 유도하였을 때도 intron 의 제거가 비효율적으로 일어났고 poly(A) 첨가도 원래 의 위치에서 뿐만 아니라 다른 여러 곳에서 일어났다. 이 사실은 pea 의 rbcS 유전자가 tobacco 에서 정확히 그리고 효율적으로 전사된 것과 대조적인 것으로 단자엽식물과 쌍자엽식물에서 RNA processing 과정에서 이용되는 신호가 다르다는 것을 암시한다.

동물유전자나 단자엽식물의 유전자를 쌍자엽식물에서 발현시킨 예가 적기 때문에 아직 일반적인 결론을 유도할 수는 없지만 유전자도입을 통한 작물의 형질전환을 위해서는 genomic clone 을 사용하는 대신에 cDNA 와 해당 식물에서 발현되는 promoter 와 poly(A) 첨가신호를 사용해야 하며 또한 보다 많은 발현조절에 관한

연구가 수행될 필요성이 있다.

결 론

유전공학적 기술을 이용하여 유용유전자를 추출하고 농작물에 도입하여 발현시킴으로써 품종을 개량하기 위한 연구는 급속도로 발전하고 있으나 아직도 식물에서 cloning 된 유전자의 수는 많지 않다. 그 이유들 중의 하나는 식물생화학의 지식이 부족하여 유전자를 추출하기 위한 probe 개발에 사용될 수 있는 주요 유전자가 암호화하는 단백질이 순수분리되지 못했기 때문이다. 따라서 유전학자, 분자생물학자, 생리학자, 생화학자들의 상호협조를 통해서 식물학의 기본적인 지식축적이 이루어지고 이 지식을 이용하여 유전자의 cloning 이 가능하리라고 생각된다. 유전자가 추출되었다고 해도 유전자도입에 의한 신품종개량에 이용하기 위해서는 유전자의 발현조절기작, 발현여부를 결정하는 요인 및 발현에 영향을 주는 위치효과 등 많은 기본적인 문제의 해결이 선행되어야 한다. 식물유전자의 발현조절을 연구하기 위해 필수적인 기술은 유전자도입기술로 여러 농작물을 위해 재조합 DNA 에 근거한 유전자도입방법이 개발되어 있고 다른 작물을 위한 방법이 현재 개발 중에 있으며 도입효율을 증진시키기 위한 연구가 수행되고 있다. 식물유전자의 조작을 위해 고전적인 방법과 보다 새로운 방법을 병행하여 사용함으로써 작물의 품종개량에 기여할 수 있다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Altschuler, M. and J.P. Mascarenhas. 1982. Heat shock proteins and effects of heat shock in plants. *Plant Mol. Biol.* 1: 103-115.

2. Anderson, O.D., J.C. Litts, M.-F. Gautier and F.C. Green. 1984. Nucleic acid sequence and chromosomal assignment of a wheat storage protein gene. *Nucl. Acids Res.* 12: 8129-8144.
3. Barnett, T., M. Altschuler, C.N. McDaniel and J.P. Mascarenhas. 1980. Heat-shock induced proteins in plant cells. *Dev. Genet.* 1: 331-340.
4. Barta, A., K. Somergruber, D. Thompson, K. Hartmuth, M. A. Matzke, and A. J. M. Matzke. 1986. The expression of a nopaline synthase-human growth hormone chimeric gene in transformed tobacco and sunflower callus tissue. *Plant Mol. Biol.* 6: 347-357.
5. Beachy, R. N., Z.-L. Chen, R.B. Horsch, S.G. Rogers, N.J. Hoffman and R.T. Fraley. 1985. Accumulation and assembly of soybean β conglycinin in seeds of transformed petunia seeds. *EMBO J.* 4: 3047-3053.
6. Bevan, M., R. Barker, A. Goldsbrough, M. Jarvis, T. Kavanagh and G. Iturriaga. 1986. The structure and transcription site of a major potato tuber protein gene. *Nucl. Acids Res.* 14: 4625-4638.
7. Bishop, P.D., G. Pearce, J.E. Bryant and C. A. Ryan. 1984. Isolation and characterization of the proteinase-inducing factor from tomato leaves. Identity and activity of poly- and oligogalaturonide fragments. *J. Biol. Chem.* 259: 13172-13177.
8. Bisseling, T., C. Been, J. Klugkist, A. van Kammen and K. Nadler. 1983. Nodule-specific host proteins in effective and ineffective root nodules of *Pisum sativum* Q. *EMBO J.* 2: 961-966.
9. Breathnach, U. and P. Chambon. 1981. Organization and expression of eucaryotic split genes coding for proteins. *Ann. Rev. Biochem.* 45: 349-384.
10. Brisson, N. and D.P.S. Verma. 1982. Soybean leghemoglobin gene family: normal, pseudo and truncated genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 4044-4059.
11. Broglie, R., G. Coruzzi, G. Lamppa, B. Keith and N.-H. Chua. 1983. Structural analysis of nuclear gene coding for the precursor to the small subunit of wheat ribulose-1,5-bisphosphate carboxy lase. *Biotechnol.* 1:55-61.
12. Brown, G.G., J.S. Lee, N. Brisson and D.P.S. Verma. 1984. Evolution of a plant globin family. *J. Mol. Evol.* 21: 19-32.
13. Brown, J.W.S. 1986. A catalogue of splice junction and putative branch point sequences from plant introns. *Nucl. Acids Res.* 14 : 9549-9559.
14. Cashmore, A.R. 1984. Structure and expression of a pea nuclear gene encoding a chlorophyll a/b-binding polypeptide. *Proc. Natl. Sci. USA* 81: 2960-2964.
15. Chang, C. and E.M. Meyerowitz. 1986. Molecular cloning and DNA sequence of the *Arabidopsis thaliana* alcohol dehydrogenase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 1408-1412.

16. Chen, J. and J.E. Varner. 1985. An extracellular matrix protein in plants: characterization of a genomic clone for carrot extensin. *EMBO J.* 4: 2145-2151.
17. Chen, Z.-L., M.A. Schuler and R.N. Beachy. 1986. Functional analysis of regulatory elements in a plant embryo-specific gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 8560-8564.
18. Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards and N.-H. 1984. Tissue-Specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *EMBO J.* 3: 1671-1679.
19. Czarnectà, E., W.B. Gurley, R.T. Nagao, L.A. Mosquera and J. L. Key. 1985. DNA sequence and transcript mapping of a soybean gene encoding a small heat shock protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 3726-3730.
20. Dean, C., P. van den Elzen, S. Tamaki, M. Black, P. Dunsmuir and J. Bedbrook. 1987. Molecular characterization of the *rbcS* multi- gene family of YPetunia Q (Mitchell). *Mol. Gen. Genet* 206: 465-474.
21. Dennis, E.S., W.L. Gerlach, A.J. Pryor, J.L. Bennetzen, A. Inflis, D. Llewellyn, M.M. Sachs, R.L. Ferl and W.J. Peacock. 1984. Molecular analysis of the alcohol dehydrogenas (*Adhl*) gene of maize. *Nucl. Acids Res.* 12:3983-4000.
22. Dennis, E.S., M.M. Sachs, W.L. Gerlach, E.J. Finnegan and W.J. Peacock. 1985. Molecular analysis of the alcohol dehydrogenase 2 (*Adh2*) gene of maize. *Nucl. Acids Res.* 13:727-743.
23. Doyle, J.J., M.A. Schuler, W.D. Godette, V. Zenger, R.N. Beachy and J.L. Slightom. 1986. The glycosylated seed storage proteins of *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris*. Structural homologies of genes and proteins. *J. Biol. Chem.* 261: 9228-9238.
24. Dunsmuir, P. 1985. The petunia chlorophyll a/b-binding protein genes: a comparison of *cab* genes from different families. *Nucl. Acids Res.* 13: 2503-2518.
25. Fluhr, R., P. Moses, G. Morelli, G. Coruzzi and N.-H. Chua. 1986. Expression dynamics of the pea *rbcS* multigene family and organ distribution of the transcripts. *EMBO J.* 5: 2063-2071.
26. Forde, B. G., A. Heyworth, J. Pywell and M. Kreis. 1985a. Nucleotide sequence of a B1 hordein gene and the identification of possible upstream regulatory elements in endosperm storage protein genes from barley, wheat and maize. *Nucl. Acids Res.* 13: 7327-7339.
27. Forde, B.G., M. Kreis, M.S. williamson, R.P. Fry, J. Pywell, P.R. Shewry, N. Bunce and B.J. Miflin. 1985b. Short tandem repeats shared by B-and C-hordein cDNAs suggest a common evolutionary origin for two groups of cereal storage protein genes. *EMBO J.* 4: 9-15.

28. Fuller, F., P.W. Kunstner, T. Nguyen and D.P.S. Verma. 1983. Soybean nodulin genes: analysis of cDNA clones reveals several major tissue-specific sequences in nitrogen-fixing root nodules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 2594-2598.
29. Gebhardt, C., J.E. Oliver, B.G. Forde, R. Saarelainen and B.J. Miflin. 1986. Primary structure and differential expression of glutamine synthetase genes in nodules, roots and leaves of *Phaseolus vulgaris*. *EMBO J.* 5: 1429-1439.
30. Goldsbrough, P.B., S.B. Gelvin and B.A. Larkins. 1986. Expression of maize zein genes in transformed sunflower cells. *Mol. Gen. Genet.* 202: 374-381.
31. Grandbastien, M. A., S. Berry-lowe, B.W. Shirley and R.B. Meagher. 1986. Two soybean ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit genes share extensive homology even in distant flanking sequences. *Plant Mol. Biol.* 7: 451-465.
32. Grosveld, G. C., E. deBoer, C.K. Schewmaker and R.A. Flavell. 1982. DNA sequences necessary for transcription of rabbit γ -globin gene *in vivo*. *Nature* 295: 120-126.
33. Heidecker, G. and J. Messing. 1986. Structural analysis of plant genes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 439-466.
34. Higgins, T.J.V. 1984. Synthesis and regulation of major proteins in seeds. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35:191-221.
35. Hunt, A.G., N.-M. Chu, J. T. Odell, F. Nagy and N.-H. Chua. 1987. Plant cells do not properly recognize animal gene polyadenylation signals. *Plant Mol. Biol.* 8:23-35.
36. Hyldig-Nielsen, J.J., E.O. Jensen, K. Paludan, O. Wiborg, R. Garret, P. Jorgensen and K.A. Marcker. 1982. The primary structure of two leghemoglobin genes from soybean. *Nucl. Acids Res.* 10: 689-701.
37. Jensen, J.S., K.A. Marcker, L. Otten and J. Schell. 1986. Nodule-specific expression of a chimaeric soybean leghemoglobin gene in transgenic *YLotus corniculatus* Q. *Nature* 321: 669-674.
38. Karlin-Neumann, G.A. and E.M. Tobin. 1986. Transit peptides of nuclear -encoded chloroplast proteins share a common amino acid framework *EMBO J.* 5: 9-13.
39. Karlin -Neumann, G.A., B.D. Kohorn, K.P. Thornber and E.M. Tobin. 1985. A chlorophyll a/b-protein encoded by a gene containing an intron with characteristics of a transposable element. *J. Mol. Appl. Genet.* 3: 45-61.
40. Katinakis, p. and D.P.S. Verma. 1985. Nodulin-24 gene of soybean codes for a peptide of the peribacteroid membrane and was generated by tandem duplication of a sequence resembling an insertion element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:4157-4161.

41. Keil, M., J. Sanchez-Serrano, J. Schell and L. Willmitzer. 1986. Primary structure of a proteinase inhibitor II gene from potato (*Solanum tuberosum*). Nucl. Acids Res. 14:5641-5650.
42. Keith, B. and N. -H. Chua. 1986. Monocot and dicot pre-mRNAs are processed with different efficiencies in transgenic tobacco. EMBO J. 5: 2419-2425.
43. Key, J.L. C.Y. Lin and Y.M. Chen. 1981. Heat shock proteins of higher plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3526-3530.
44. Koncz, C., F. Kreuzaler, Zs Kalman and J. Schell. 1984. A simple method to transfer, intergrate and study expression of foreign genes such as chicken ovalbumin and alpha-actin in plant tumors. EMBO J. 3: 1029-1037.
45. Lamppa, G.K., G morelli and N. -H. Chua. 1985. Structural and dovelopmental regulation of a wheat gene encoding the major chlorophyll a/b-binding polypeptides. Mol. Cell. Biol. 5: 1370-1378.
46. Landsmann, J., E.S. Dennis, T.J.V. Higgins, C.A. Appleby, A.A. Kortt and W.J. Peacock. 1986. Common evolutionary origin of legume and non-legume plant hemoglobins. Nature 324: 166-168.
47. Lang-Unnasch, N. and F. M. Ausubel. 1985. Nodule-specific polypeptides from effective alfalfa root nodules and ineffective nodules laking nitrogenase. Plant Physiol. 77: 833-839.
48. Legocki, R.P. and D.P.S. Verma. 1980. Identification of nodule-specific host proteins (nodulins) involved in the development of *Rhizobium* -legume symbiosis. Cell 20: 153-163.
49. Lee, J.S. and D.P.S. Verma. 1984a. An enigma of the leghemoglobin genes. In Genetic Engineering: Principles and Methods. eds. J.K. Setlow and A. Holllaender, Plenum, New York, vol 6, pp 49-66.
50. Lee, J.S. and D.P.S. Verma. 1984b. Structure and chromosomal arrangement of leghemoglobin genes in kidney bean suggest divergence in soybean leghemoglobin gene loci following tetraploidization. EMBO J. 3: 2745-2752.
51. Lee, J.S., G.G. Brown and D.P.S. Verma. 1983. Chromosomal arrangement of leghmoglobin genes in soybean. Nucl. Acids Res. 11: 5541-5553.
52. Lee, J.S., W.E. Brown, J.S. Graham, G. Pearce, E. A. Fox, T.W. Dreher, K.G. Ahern, G. D. Pearson and C.A. Ryan. 1986. Molecular characterization and phylogenetic studies of a wound-inducible proteinase inhibitor I gene in *Lycopersicon* species. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7277-7281.
53. Leutwiler, L.S., E.M. Meyerowitz and E.M. Tobin. 1986. Structure and Expression of three light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein genes in *Arabidopsis thaliana* . Nucl. Acids Res. 14: 4051 - 4064.

54. Lycett, G.W., R.R.D. Croy, A.H. Shirsat and D. Boulter. 1984. The complete nucleotide sequence of a legumin gene from pea (*Pisum sativum* L.). Nucl. Acids Res. 12: 4493-4506.
55. Lycett, G.W., R.D. Croy, A.H. Shirsat, D.M. Richards and D. Boulter. 1985. The 5'-flanking regions of three pea legumin genes: comparison of the DNA sequences. Nucl. Acids Res. 13: 6733-6743.
56. Marco, Y.A., V.H. Thanh, N.E. Tumer, B.J. Scallan and N.C. Nielsen. 1984. Cloning and structural analysis of DNA encoding and A B subunit of glycinin. J. Biol. Chem. 259: 13436-13441.
57. Mauro, V.P., T. Nguyen, P. Katinakis and D.P.S. Verma. 1985. Primary structure of the soybean nodulin-23 gene and potential regulatory elements in the 5'-flanking regions of nodulin and leghemoglobin genes. Nucl. Acids Res. 13: 239-249.
58. Mazur, B. J and C.-F. Chui. 1985. Sequence of a genomic DNA clone for the small subunit of ribulose bis-phosphate carboxylase-oxygenase from tobacco. Nucl. Acids Res. 13: 2373-2386.
59. Messing, J., D. Geraghty, G. Heidecker, N.-T. Hu, J. Kridl and I. Rubenstein. 1983. Plant gene structure. In Genetic Engineering of Plants. eds. T. Kosuge, C.P. Meredith and A. Hollaender, Plenum, New York, pp 211-227.
60. Morelli, G.F. Nagy, R.T. Fraley, S.G. Rogers and N.-H. Chua. 1985. A short conserved sequence is involved in the light-inducibility of a gene encoding ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase small subunit of pea. Nature 315: 200-204.
61. Nguyen, T., M. Zelechowska, V. Foster, H. Bergmann and D.P.S. Verma. 1985. Primary structure of the soybean nodulin-35 gene encoding uricase II localized in the peroxisomes of uninfected cells of nodules. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 82: 5040-5044.
62. Ohyama, K., H. Fukuzawa, T. Kohchi, H. Shirai, T. Sano, S. Sano, K. Umesono, K. ,Y. Shiki, M. Takenchi, Z. Chang, S. Aota, H. Inokuchi and H. Ozeki. 1986. Chloroplast gene organization deduced from complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA. Nature 332: 572-574.
63. Pedersen, K., J. Devereux, D.R. Wilson, E. Sheldon and B.A. Larkins. 1982. Cloning and sequence analysis reveal structural variation among related zein genes in maize. Cell 29: 1015-1026.
64. Pichersky, E., R. Bernatzky, S.D. Tanksley, R.B. Breidenbach, A.P. Kausch and A.R. Cashmore. 1985. Molecular characterization and genetic mapping of two clusters of genes encoding chlorophyll a/b-binding proteins in *Lycopersicon esculantum* Q (tomato). Gene 40: 247-258.
65. Pichersky, E., R. Bernatzky, S.R. Tanksley and A.R. Cashmore. 1986. Evidence for selection as a mechanism in the concerted evolution of

- Lycopersicon esculantum* (tomato) genes encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 3880-3884.
66. Poulsen, C.P., Fluhr, R., J.M. Kauffman, M. Boutry and N.-H. Chua. 1986. Characterization of an *rbcS* gene from *Nicotiana plumbaginifolia* and expression of an *rbcS*-CAT chimeric gene in homologous and heterologous nuclear background. Mol. Gen. Genet. 205: 193-200.
 67. Rochester, D.E., J.A. Winter and D.M. Shah. 1986. The structure and expression of maize genes encoding the major heat shock protein, hsp70. EMBO J. 5: 451-458.
 68. Rosahl, S., R. Schimdt, J. Schell and L. Willmitzer. 1986. Isolation and characterization of a gene from *Solanum tuberosum* encoding patatin, the major storage protein of potato tubers. Mol. Gen. Genet. 203:214-220.
 69. Sandal, N.N., K. Bojsen and K.A. Marcker. 1987. A small family of nodule specific genes from soybean. Nucl. Acids Res. 15: 1507-1519.
 70. Schuler, M.A., E.S. Schmitt and R.N. Beachy. 1982. Closely related families of genes coding for the and subunits of the soybean 7S storage protein complex. Nucl. Acids Res. 10: 8225-8244.
 71. Schoffl, F., E. Raschke and R.T. Nagao. 1984. The DNA sequence analysis of soybean heat-shock genes and identification of possible regulatory promoter elements. EMBO J. 3: 2491-2497.
 72. Sharf, K.D. and L. Nover. 1982. Heat shock induced alterations of ribosomal protein phosphorylation in plant cell cultures. Cell 30 : 427-437.
 73. Schinozaki, K., M. Ohme, M. Tanaka, T. Wakasugi, N. Hayashida, T. Matsubayashi, N. Zaita, J. Chunwongse, J. Obokata, K. Yamaguchi-Shinozaki, C. Ohto, K. Torazawa, M. Meng, H. Deno, T. Kamogashira, K. Kamada, J. Kusuda, F. Takaiwa, A. Kato, N. Tohdoh, H. Shimada and M. Sugiura. 1986. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome : its gene organization and expression. EMBO J. 5: 2043-2049.
 74. Sengupta-Gopalan, C., N.A. Reichert, F.F. Barker, T.C. Hall and J.D. Kemp. 1985. Developmentally regulated expression of the bean - phaseolin gene in tobacco seed. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 3320-3324.
 75. Sequeira, L. 1983. Mechanisms of induced resistance in plants. Ann Rev. Microbiol. 37: 51-79.
 76. Simpson, J., M. Van Montagu and L. Herrera-Estrella. 1986a Photosynthesis-associated gene families: Differences in response to tissue-specific and environmental factors. Science 233: 34-38.
 77. Simpson, J., J. Schell, M. Van Montagu and L. Herrera-Estrella. 1986 b.

Light- inducible and tissue- specific pea lhcp gene expression involves a upstream element combining enhancer- and silancer-like properties. Nature 323: 551-554.

78. Slightom, J.L., S.M. Sun and T.C. Hall. 1983. Complete nucleotide sequence of a French bean storage protein gene: phaseolin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 1897-1901.
79. Spena, A. and J. Schell. 1987. The expression of a heat-inducible chimeric gene in transgenic tobacco plants. Mol. Gen. Genet. 206 : 436-440.
80. Stayton, M.M., M. Black, J. Bedbrook and P. Dunsmuir. 1986. A novel chlorophyll a/b binding (*cab*) protein gene from petunia which encodes the lower molecular weight cab precursor protein. Nucl. Acids res. 14: 9781-9796.
81. Stiekema, W.J., C.F. Wimpee and E.M. Tobin. 1983. Nucleotide sequence encoding the precursor of the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase from *Lemna gibba* L. G-3. Nucl. Acids Res. 11:8051-8061.
82. Sugiyama, T., A. Rafalski, D. Peterson and D. Soll. 1985. A wheat HMW glutenin subunit gene reveals a highly repeated structure. Nucl. Acids Res. 13: 8729-8739.
83. Timko, M.P., A.P. Kausch, C. Castresana, J. Fassler, L. Herrera- Estrella, G. Van Den Broeck, M. Van Montagu, J. Schell and A.R. Cashmore. 1985. Light regulation of plant gene expression by an upstream enhancer-like element. Nature 318: 579-582.
84. Tumer, N.E., W.G. Clark, G.J. Tabor, C.M. Hironaka, R.T. Fraley and D.M. Shah 1986. The genes encoding the small subunit of ribulose- 1,5-bisphosphate carboxylase are expressed differentially in petunia leaves. Nucl. Acids Res. 14: 3325-3342.
85. Vodkin, L.O., P.R. Rhodes and R.B. Goldberg. 1983. cA lectin gene insertion has the structural features of a transposable element. Cell 34: 1023-1031.
86. Wiborg, O., J.J. Hyldig-Nielsen, E.O. Jensen, K. Paludan and K.A. Marcker. 1982. The nucleotide sequences of tqo leghemoglobin from soybean Nucl. Acids Res. 10:3487-3494.

저 자 약 력

이 종 섭 (李鍾燮) 박사

1954. 1. 8. 생

1977 서울대학교 식물학과 (이학사)

1981 캐나다 York대학교 (이학석사)

1984 캐나다 McGill대학교 (Ph. D.)

1984. 10. - 86. 6. 미국 Washington주립대학교 생물화학연구소 연구원

1986. 9. - 현재 서울대학교 식물학과 교수