

# 뿌리의 발생과 성장에 미치는 옥신 활성 신호전달 연구

김수환

연세대학교 문리대학 생명과학과

Ran/TC4 (Ras-related nuclear small G protein) 단백질은 세포핵에 존재하는 small GTP-binding protein 으로 GTP나 GDP 결합상태에 따라 그 활성이 조정되고 이러한 조정은 단백질과 RNA의 핵공(nuclear pore)을 통한 이동이나 세포주기 진행 등 여러 가지 세포학적 활동에 지대한 영향을 미친다. 단백질의 크리스탈 구조 분석에 의하면 Ran 단백질은 Switch I, switch II, 그리고 산성이 강한 Carboxy 단말기로 구성되어 있으며 Ran에 대한 GTP, GDP의 결합은 이 모든 도메인의 구조변형을 일으켜서 Ran의 기능을 조절하는 것으로 추측이 되었다.

한편 Ran-GTP나 Ran-GDP에 특이적으로 또는 공통적으로 결합하는 Ran 결합 단백질등도 여러 가지 알려져 있는데 이러한 단백질군은 Ran의 GTPase 활성이나 GTP 또는 GDP의 결합 상태를 조정함으로써 Ran이 관여하는 여러 가지 복합적이고 독립적으로 보이는 세포활성 등을 정교하게 매개하는 것으로 연구되어 있다.

본 발표자는 애기장대의 세포핵에 존재하는 Ran 과 Ran 결합 단백질의 하나인 AtRanBP1c를 클로닝하고 이 단백질들이 옥신 호르몬에 대한 식물의 감수성을 조절하는 중요한 신호전달 단계를 구성하는 한 부분임을 밝혀냈다. 이러한 Ran/AtRanBP1c 신호전달 체계는 옥신에 의한 세포주기 진행을 조정하거나 식물생장을 촉진시켜 식물 뿌리의 발생과 성장에 지대한 영향을 미치는데, 전사방향의 완두콩의 Ran (sense PsRan1-7)이나 역전사 방향의 AtRanBP1c 유전자 (antisense AtRanBP1c-2)를 과다 발현 시킨 형질전환 애기장대는 천연형에 비하여 주 뿌리의 (primary root) 길이가 크게 증대 되었다 (그림 1). 그리고 이러한 형질은 AtRanBP1c와 상동단백질인 AtRanBP1a나 AtRanBP1b에 의해서는 나타나지 않았으며 AtRanBP1c의 뿌리 특이적인 반응이었다.

한편 antisense AtRanBP1c 형질 전환체는 옥신에 대한 반응이 1000배 이상 높아

졌는데 본 연구진들은 이러한 옥신에 대한 초 감수성이 평소에는 뿌리의 성장반응을 일으키지 않는 아주 작은 농도의 내부 옥신으로도 형질 전환체에서는 성장반응이 일어나게 했으리라 가정하였다(그림 2A). 실제로 길이가 성장된 주 뿌리의 현미경적 관찰 결과 뿌리길이의 증가는 세포수의 증가가 아닌 세포길이 성장에 의해 유발되었다.

이외에도 옥신 농도별 반응 실험을 통해 형질 전환체에서는 적은 농도의 옥신에 의해서도 ( $10^{-11}$  M) 세포사멸이 일어나고 또한

세포분열중인 세포들이 거의 대부분 유사분열 중기에 멈춰있음을 밝힘으로서 식물의 Ran과 AtRanBP1c가 옥신에 의한 세포분열 조절에도 관여하며 특히 중기 (metaphase)에서 말기 (telophase)로 넘어가는 과정에 중요한 역할을 함을 가정하였다 (그림 2B; 표1). 한편 Ran의 활성화에 미치는 AtRanBP1c의 역할을 생화학적, 세포학적으로 분석하여 AtRanBP1c가 식물의 RanGAP 단백질의 활동을 도와 Ran의 GTPase 활성을 높임을 밝혔고 또한 위의 Ran 결합 단백질은 carboxy 단말기 지역에 존재하는 NES (nuclear export signal)의 도움을 받아 핵막의 세포질 면 쪽에 존재한다는 것도 증명하였다.

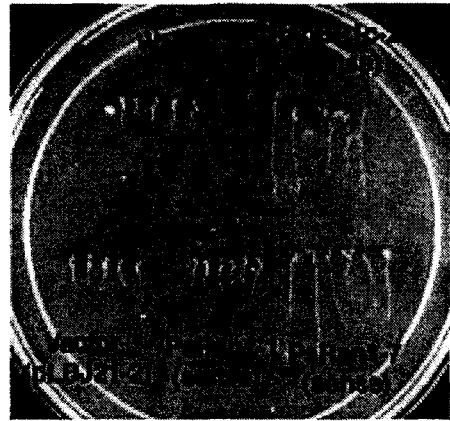


그림 1. 천연형과 antisense AtRanBP1c 변형체 애기장대의 2주된 유식물의 비교

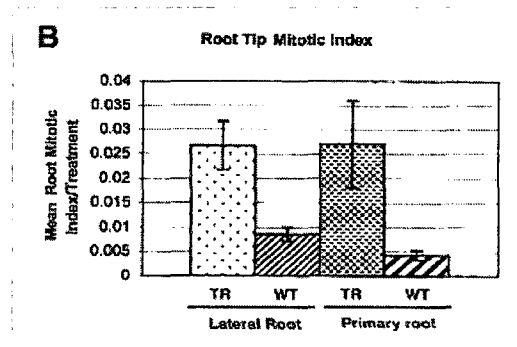
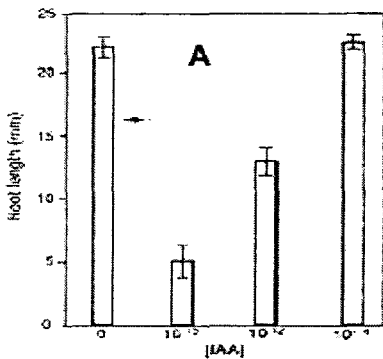


그림 2. 여러 농도의 옥신 처리에 따른 antisense AtRanBP1c 변형 애기 장대의 주 뿌리 길이 변화와 분열세포의 세포분열 진행단계.

(A) 외부옥신 처리에 따른 뿌리 성장 억제 반응이 일반적으로 천연형에서는  $10^{-9}$  M

에서 나타나는데 변형 식물의 경우는  $10^{-12}$  M 에서부터 나타났다. 그림중의 화살표는 천연형 애기장대의 주 뿌리 길이를 표시한다. (B)  $10^{-11}$  M의 옥신을 처리한 변형식물 (TR)과 천연형 (WT)의 결뿌리와 주 뿌리에서 뿌리분열세포의 세포분열 진행상태를 측정하여 mitotic index로 나타내었다. mitotic index는 뿌리의 meristematic zone에 있는 유사분열을 하고 있는 세포를 그 지역의 전체 세포수로 나눈 값이다. 변형식물에는 유사분열상태에 있는 세포의 수가 월등히 많았으며 이러한 세포들은 90%이상이 유사분열 중기 상태에 머물러 있었다(표 1).

표 1. 옥신을 처리한 식물의 뿌리 분열 세포의 체세포 분열 단계.

	Lateral roots		Primary roots	
	anti-AtRanBP1c	wild type	anti-AtRanBP1c	wild type
Metaphase	91	47	77	46
Anaphase	9	13	23	23
Telophase		40		31

이와 같은 사실들과 비 식물 시스템에서 이루어진 연구를 바탕으로 본 연구진은 antisense AtRanBP1c 형질 전환체에서 관찰되는 옥신감수성 변화와 증기에서 그쳐진 옥신에 의한 유사분열 진행현상을 아래와 같이 설명하였다.(그림 3)

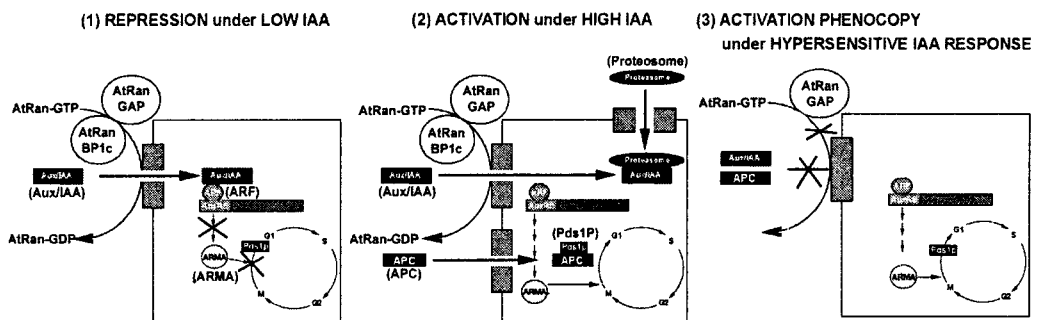


그림 3. antisense AtRanBP1c 형질전환체에서 보이는 IAA 초감도를 설명하는 모델.

(1) **Repression under low IAA.** 천연형의 식물에서는 세포질 방향의 핵막에 존재하는 AtRanBP1c와 AtRanGAP에 의해 RanGTPase 활성이 촉진되어 항상 핵 안쪽에 비해 핵 바깥쪽의 Ran-GDP가 많은 비대칭적 분포 (gradient) 상태를 유지한다. 이때는 옥신 활성을 억제하는 Aux/IAA 단백질 (빨간 박스)이 핵 내로 잘 이동하

여 ARF (auxin responsive factor)의 활성을 억제하고 이에 따라 유사분열의 중기에서 말기 진행을 촉진하는 ARMA (auxin-regulated mitotic activator)의 활성도 억제된다. 또한 anaphase inhibitor인 Pds1p도 유사분열 진행을 억제 한다

(2) **Activation under high IAA.** 높은 농도의 외부 옥신이 주어지면 proteosome의 핵 내 이동이나 활성이 촉진되어 Aux/IAA를 분해하고 ARF는 유사분열을 촉진하게 된다. 동시에 중기에서 anaphase 로의 유사분열을 진행시키는 APA (anaphase promoting factor)의 핵 내 유입도 촉진되어 anaphase inhibitor 단백질인 Pds1p를 분해한다. 그리하여 옥신 자극에 의한 세포 분열 진행이 일어나게 된다.

(3) **Activation, phenocopy under hypersensitive IAA response.** Antisense AtRanBP1c가 도입된 형질전환체는 세포질 방향의 핵막에서 Ran-GTPase 활동이 억제되어 결과적으로 Ran-GTP가 많이 분포하게 된다. 이는 핵막 안팎의 불균등한 Ran-GDP/Ran-GTP의 분포를 저해하여 외부 옥신 처리 시 Aux/IAA의 유입을 방해하게 되어 유사분열 진행을 일으키지만 동시에 일어나야 될 APC에 의한 Pds1p 단백질의 분해를 저해함으로써 세포분열이 말기로 진행하지 않고 중기에 멈추게 하고 중국에는 사멸에 이르게 한다. 이와 같은 원인이 그림 2A에서 보듯 낮은 농도의 옥신 처리에도 뿌리의 생장이 저해되게 한다.

옥신은 뿌리 발생을 촉진하는 물질로 많이 알려져 왔으며, 최근에 옥신을 처리하여 식물의 뿌리 형성을 촉진하는 기작을 연구에 대한 문헌이 보고되고 있다. 옥신은 냉해와도 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있는데, 냉해는 식물체내의 옥신 함량을 낮추는 것으로 보고 된 바 있다. 이러한 보고들은 옥신이 뿌리 형성이나 냉해와 관련이 높다는 것을 암시한다. 그러므로 옥신의 감수성을 변화시키는 Ran/AtRanBP1c에 관한 지식을 응용하면 식물의 발근율과 뿌리성장을 촉진시켜 공해물질 정화용 환경수종이나 강우량이 적은 지역에서 자라는 작물의 생존율을 높이고 또는 고구마와 같이 냉해에 약한 작물의 조기재배에서 문제점으로 제기 되었던 발근의 효율을 높여 노동비의 절감과 생산성 증대에 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 이외에도 잔디, 인삼 등 수많은 고부가 가치를 지닌 뿌리작물들의 품질개량에도 유용하게 적용될 수 있을 것이다. 또한 면화의 면사 성장과 같이 발생단계의 초기 또는 중기에 옥신에 의한 면사 발생이나 생장이 중요시 되는 경제작물에서는 이곳에서 특이적으로 발현하는 프로모터를 이용, antisense AtRanBP1c를 발현시키면 면사의 양이나 길이가 길어진 경제작물을 개발 할 수 있을 것이다.