

고려인삼의 Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Small Subunit(*rbcS*) 유전자의 분리 및 특성분석

인준교, 이범수, 윤재호¹⁾, 손희²⁾, 이태후²⁾, 양덕춘^{2)*}

(주)바이오피아 생명공학연구소, ²⁾경희대학교 한방재료가공학과

Molecular Cloning of a cDNA Encoding Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase Small Subunit (*rbcS*) from *Panax ginseng* C. A. Meyer

Jun Gyo In, Bum Soo Lee, Jae-Ho Youn¹⁾, Hwa Son²⁾, Tae Hoo Yi²⁾ and Deok Chun Yang^{2)*}

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

¹⁾Dept. of Oriental Medicine Material and Processing, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea
Abstract

ABSTRACT

A full-length cDNA encoding ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit (*rbcS*) has been isolated and its nucleotide sequence determined from root in ginseng plant (*Panax ginseng*). The *rbcS* cDNA of ginseng is 790 nucleotides long and has an open reading frame of 549 bp with deduced amino acid of 183 residues (pI 8.37), 20.5 kDa. The deduced amino acid sequence of *rbcS* matched to the previously reported *rbcS* protein genes and showed a high similarity with the 78% identity with *rbcS* of *Helianthus annuus* (CAA68490). In the phylogenetic analysis based on the amino acid residues, the ginseng *rbcS* was clustered with *H. annuus* (CAA68490), *C. morifolium* (AAO25119) and *L. sativa* (Q40250).

Key words : *Panax ginseng*, *rbcS*, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, root

서론

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase(Rubisco)는 식물의 광합성에 있어서 중요한 효소이다. Rubisco는 식물에서 탄소고정(CO₂ fixation)의 첫 번째 반응과 관련된 효소로서 8개의 large subunits (*rbcL*)와 8개의 small subunits(*rbcS*)로 구

성되어 있다(Akazawa et al., 1984; Jensen and Bahr, 1977). 이들 효소는 고등 식물의 chloroplast에서 발견되는데 *rbcL* subunits의 유전정보가 chloroplast에 존재하는데 반하여, *rbcS* subunits의 유전정보는 핵에 존재하고 있으며, 세포질에서 합성된 후 chloroplast로 전송된다(Ellis, 1981; Keegstra et al., 1989). 이때 transit

*교신저자 : E-mail : dcyang@khu.ac.kr

peptide가 chloroplast 안으로의 전송을 매개하며 전송되는 동안이나 후에 바로 떨어져 나간다(Tobin and Silverthorne, 1985). 성숙된 small subunit는 CO₂ 고정을 촉매하는 holoenzyme을 형성하기 위해서 large subunit와 chloroplast stroma에서 결합한다. Rubisco의 carboxylase와 oxygenase 활성을 위한 촉매부위는 large subunit에 모두 존재한다.

식물의 잎에서 대량으로 생산되는 rbcS는 광범위한 식물 중에서 분리되었다(Dean *et al.*, 1989). 이들 유전자의 염기서열비교를 보면 유사성이 매우 높았는데, 이는 구조적·기능적인 면에서 이들 단백질의 진화적인 보존성이 매우 높다는 것을 가리킨다. rbcS 유전자는 chlorophyll a/b binding protein(cab)과 함께 식물유전자의 근원적인 광조절 발현의 분자기작을 연구하는 전형적인 모델 시스템으로 이용되어 왔다. 광에 의한 광수용체(photoreceptor)의 자극은 rbcS 유전자의 증가된 전사에 의한 것이라고 믿어지고 있다. 그러나 광수용과 유전자 활성화에 대한 상세한 신호전달 경로는 아직 명확하게 규명되어 있지 않다. 다만 rbcS의 유전자 발현은 빛에 의해 증가되며(Kuhlmeier *et al.*, 1987), phytochrome에 의해 조절된다고(Tobin *et al.*, 1981, Stiekema *et al.*, 1983) 알려져 있다.

고려인삼은 과학적인 연구에 의한 효능을 인정받으면서 그 수요가 급증하고 있으나, 반음지성 식물로서 직사광선에 약하여 재배시에 차광막을 설치하지 않으면 재배하기 어려운 까다로운 약용작물이다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 무엇보다도 인삼의 광합성에 대한 과학적인 연구가 선행되어야 하는데, 재배 및 생리학적 연구가 진행되었을 뿐, 반음지성 식물인 인삼의 광합성에 대한 분자생물학적 연구는 매우 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 반음지성 식물인 인삼의 광합성 기작에 대한 분자생물학적인 연구를 수행하고자 cDNA library로부터 광합

성에서 중추적인 역할을 하는 유전자인 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit(rbcS)의 유전자를 분리하고 이들의 분자적인 특성을 분석하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 연구에 사용한 재료는 (구)한국인삼초연구원의 포장에 이식한 후 차광을 하여 14년간 생장시킨 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 뿌리를 채취한 후 흐르는 수돗물로 깨끗이 씻은 후 액체질소로 얼린 후 -80℃에 보관하였다.

RNA추출과 cDNA library의 제작

Total RNA는 Morris 등(1990)의 aqueous phenol extraction 방법을 사용하여 14년근 인삼의 뿌리조직에서 추출하였다. 인삼 뿌리조직은 RNA 추출 전에 액체질소가 있는 상태에서 유발을 이용하여 마쇄하였다. Poly(A)⁺ RNA는 mRNA purification kit(Amersham pharmacia, UK)를 사용하여 oligo(dT) cellulose column으로 정제하였으며, cDNA 합성은 시판되고 있는 cDNA synthesis kit(Stratagene, USA)을 사용하였다. Single-strand cDNA를 합성하기 위해서 5μg의 정제한 poly(A)⁺ RNA를 사용하였고, 직접 cloning을 하기 위해서 3' 말단에는 Xho I 제한효소를 가지고 있는 oligo(dT) primer를 사용하였다. Double-stranded cDNA는 RNase H로 poly(A)⁺ RNA를 제거한 후 E. coli DNA polymerase를 사용하여 합성하였다. 합성된 double-stranded cDNA의 양말단에 Eco RI oligonucleotide adapter를 붙인 후, Eco RI과 Xho I의 제한효소로 처리한 후 sepharose CL-2B column을 사용하여 크기별로 분획하였다. 분획된 cDNA는 Uni-ZAP XR vector에 붙인 후

Gigapack III gold packaging extract kits(Stratagene, USA)을 이용하여 *in vitro* packaging을 하였다.

Sequence 분석

14년근의 인삼뿌리 조직으로 제작한 cDNA library에서 무작위로 3,000개의 EST clone을 선발하고 5' 방향에서 염기서열분석을 실시한 후 NCBI의 blastx 프로그램을 이용하여 상동성 분석을 실시한 후 rubisco 유전자에 상동성을 나타내는 clone을 선발하였다. 선발된 clone은 helper phage를 이용하여 UniZAP-XR vector로 부터 pBluescript SK(+/-) phagemid로 분리한 후 sequence 분석에 사용하였다. Rubisco에 상동성을 나타낸 cDNA insert는 DNA sequencer(ABI prism 3700, USA)를 이용하여 5' 과 3' 양방향의 sequencing primer를 이용하여 전체의 염기서열을 분석하였다. Nucleotide와 아미노산 sequence 분석은 DNASIS 프로그램(Hitachi, Japan)을 사용하였다. NCBI에서 DNA와 단백질 database에서 rubisco 유전자의 기능 동정은 Altschul *et al.*(1990)의 blast algorithm에 따라서 수행하였다.

Sequence alignment와 계통분석

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

결과 및 고찰

본 연구에서는 인삼의 뿌리 조직에서 유전자 발현양상(gene expression profiling)을 분석

하기 위해서 3,000개의 EST을 무작위로 선발한 후 5' 영역에서 sequencing을 실시하였다. 분석된 EST clone들은 NCBI의 blast 프로그램을 이용하여 상동성 검색을 실시하였다. 이 중에서 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit(*rbcS*)에 높은 상동성을 나타내는 clone(DC02023B02)을 선발하였다. 인삼의 *rbcS* 유전자는 전장의 길이가 811 bp로, 5' non-coding 영역이 40 bp, 3' non-coding 영역이 189 bp로 구성되어 있다(Fig. 1). 41번째 염기부터 ATG 코돈으로 시작되는 단백질 번역부위(open reading frame)는 549 bp번째의 TGA 코돈으로 종결되어 있고 21개의 poly A가 연결되어 있었다. 또한 3' 영역에서 23번째 염기에 전형적인 polyadenylation signal(AATAAA)이 관찰되었다(Fig. 1). 인삼 *rbcS* 유전자는 183개의 아미노산(pI 8.37)으로 구성되어 있고 분자량은 20.5 kDa 정도 되는 것으로 추정되었다.

식물의 genome에서 전사되는 *rbcS* 유전자는 단백질이 합성된 후 chloroplast로 전송되는데 이때 transit peptide가 *rbcS* 단백질의 전이를 도와준다. 인삼에서 분리된 *rbcS* 유전자가 code하는 단백질은 58개의 transit peptide가 존재하고 있으며, 그 뒤에 125개의 아미노산으로 구성된 mature protein이 연결되어 있다(Fig. 2). Transit peptide에는 다른 chloroplast 단백질의 transit peptide와 동일하게 수산화된 아미노산인 세린(serine)과 소수성 아미노산인 알라닌(alanine)과 발린(valine)이 많이 포함되어 있다(Keegstra *et al.*, 1989). 또한 mature protein에는 Rubisco small subunit 단백질에서 보존영역(conserved region)으로 알려진 hexadecapeptide인 YYDGRYWMTMWKLPMPFG의 아미노산 영역이 관찰되었다(Dean *et al.*, 1989).

각 식물체에서 보고된 *rbcS* 단백질의 아미노산 서열을 비교한 결과 인삼의 경우 183개의 아

미노산으로 구성되어 있는데 비해, *Lactuca sativa*(Q40250), *Arabidopsis thaliana* (AAN28753), *Brassica napus* (CAA39402), *Raphanus sativus* (CAA29801), *Brassica napus* (CAA43410) 등은 181개, *Nicotiana plumbaginifolia*(CAA31994)는 180개, *Chrysanthemum x morifolium* (AAO25119)은 179개, *Helianthus annuus*(CAA68490)와 *Glycine max* (AAG24884)는 178개의 아미노산으로 구성되어 있어 *rbcS* 단백질은 식물종에 따라 다양하게 존재하고 있다(Fig. 2).

인삼에서 분리한 *rbcS* 유전자와 다른 식물체에서 분리된 *rbcS* 단백질의 아미노산 서열을 비교하여 상동성을 조사한 결과 인삼의 *rbcS*는 *Helianthus annuus*와 78%의 상동성으로 가장 높게 나타났으며, 비교된 다른 식물체들의 *rbcS* 단백질들은 75-77%의 범위에서 유사도를 나타냈다.

인삼에서 분리한 *rbcS* 유전자와 다른 식물체에서 보고된 *rbcS* 단백질들의 아미노산 서열을 비교하여 유연관계를 분석하였다(Fig. 3). 그 결과 *rbcS* 단백질들은 크게 3 cluster로 구분되었는데, 인삼의 경우는 *Lactuca sativa*(Q40250), *Chrysanthemum x morifolium*, *Helianthus annuus* 등과 같은 cluster에 속하였다. 십자화과에 속하는 *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Raphanus sativus* 등은 독립된 cluster를 형성하였다(Fig. 3).

빛에 의해서 조절되는 유전자들은 cis-acting elements와 다양한 전사조절인자들에 의해서 발현이 조절된다고 하는 것이 많은 식물의 연구들에서 제시되어 왔다(Gilmartin *et al.*, 1990). 또한 식물의 광조절에 대한 이들의 상호작용에 대한 분자적인 특성에 대하여 활발하게 연구가 진행되고 있다. 가장 광범위하게 연구된 광반응 유전자들은 *rbcS*와 chlorophyll a/b-binding protein(*cab*) 유전자이다(Tobin and Silverthorne, 1985; Manzara and

Gruissen, 1988; Dean *et al.*, 1989).

인삼에서는 Lee 등(1995)에 의해서 인삼의 chloroplast genome으로부터 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit(*rbcL*)가 분리되었다. 그러나 *rbcS*는 본 연구에서 분리된 것이 처음으로 아직 분자생물학적인 연구가 거의 이루어져 있지 않다. 따라서 본 연구를 통하여 인삼에서는 처음으로 분리된 *rbcS* 유전자를 이용하여 인삼 식물체의 광조사에 대한 발현양상 및 기능에 대한 연구를 지속적으로 수행할 것이다.

적요

고려 인삼(*Panax ginseng*)의 뿌리로부터 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit(*rbcS*) 유전자를 선별하여 sequence 분석을 실시하였다. 고려 인삼 *rbcS* cDNA는 790 bp 염기로 구성되어 있으며, 183개의 아미노산(pI 8.37)을 코딩하는 549 bp의 ORF를 가지고 있고 단백질의 분자량은 20.5 kDa으로 추정되었다. 인삼 *rbcS*는 기존에 보고된 것과 유사성을 나타내었으며, *Helianthus annuus*(CAA68490)에서 분리된 것과 78%의 높은 상동성을 보였다. 기존에 데이터베이스에 축적되어 있는 다른 식물체로부터 분리된 *rbcS*와 아미노산 서열을 비교한 결과 인삼의 *rbcS*는 *H. annuus* (CAA68490), *C. morifolium* (AAO25119), *L. sativa* (Q40250)와 밀접한 유연관계에 있는 것으로 조사되었다.

사사

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

```

ACCAAGGTTAGTGAAGTTAGGAGAAACAATTTTTAGTTAATGGCTTCCTCCGTGATCTC 60
                                M A S S V I S 7
CTCGGCCACCGTGGCCGCCGTGAGCCGGGCCGTCCCAGCTCAAGCCAGCATGGTTGCACC 120
S A T V A A V S R A V P A Q A S M V A P 27
CTTCACCGGCCTCAAGTCTACCGCAGCTTTTCCGGTCACCAGAAAGGTCAACGACATTAC 180
F T G L K S T A A F P V T R K V N D I T 47
CTCTCTCCTAGCAATGGTGGAAAGAGTGCAATGCATGAAGGTGTGGCCACCACTTGGTTT 240
S L P S N G G R V Q C M K V W P P L G L 67
GAAGAAGTTCGAGACTCTGTCTTACCTCCCACAACCTCACACAAGAACAATTGTCAAAGGA 300
K K F E T L S Y L P Q L T Q E Q L S K E 87
AGTCGATTATCTCCTCCGTAGTGGATGGGTTCCCTTGCTTGGAAATTCGAGTTGGAGCACGG 360
V D Y L L R S G W V P C L E F E L E H G 107
ATTCGTGTACCGTGAGCACCACCACTCACCAGGGTACTATGACGGACGTTACTGGACAAT 420
F V Y R E H H H S P G Y Y D G R Y W T M 127
GTGGAAGCTGCCCATGTTTGGATGCACTGATTCATCTCAGGTGTTGAAAGAAGTAGAGGA 480
W K L P M F G C T D S S Q V L K E V E E 147
GTGCAAGAAGGAGTACCCAAATGCATACATCCGAATTATTGGATTGACAACGTCCGTCA 540
C K K E Y P N A Y I R I I G F D N V R Q 167
AGTGCAGTGCATCAGTTTCATTGCCTTCAAGCCACCTTCTGCCTCTACCTAATTAATTA 600
V Q C I S F I A F K P P S A S T * 183
TTAAGCAAGCTACATTTATTTATTTCTGTATCTTAATTAATTTCTCCTCCATTTTTCCCA 660
TCCAATTGCAATTTACTGTTTTGAATTCCTTTTCTTTCTGTCTGCTTCGATTTCTGT 720
TTGCGGATTTTGAATGACAATCATGTATGATGAGGAGATTATCAAGTAATAAAAATTTCT 780
ACGTCCAGAT 790

```

Fig. 1. A cDNA and deduced amino acid sequences of rubisoco small subunit isolated from *Panax ginseng*. The positions of nucleotides are shown on the left and the positions of amino acids under the below. The asterisk is indicated the stop codon. The nucleotide sequence data reported will appear in the EMBL, GenBank and DDBJ Nucleotide Sequencing Database under the accession number AB236868.

Panax	MASSV I SSATVAAVSRAVPAQASMVAPFTGLKSTAAFPVTRKVN-D I TSL	49
Brassica	MASSMLSSAAVVTS-----PAQATMVAPFTGLKSSAAFPVTRKANND I T S I	46
Brassica	MASSMLSSAAVVTS-----PAQATMVAPFTGLKSSAAFPVTRKANND I T S I	46
Raphanus	MASSMLSSAAVVTS-----QLQATMVAPFTGLKSSAAFPVTRKNTD I T S I	46
Arabidopsis	MASSMLSSAAVVTS-----PAQATMVAPFTGLKSSAAFPVTRKANND I T S I	46
Glycine	MASSM I SSPAVTTVN---RAGAGMVAPFTGLKSMAGFP-TRKTNND I T S I	46
Nicotiana	MASSVLSSAAVATRS---NVAQANMVAPFTGLKSAASFVSRKQNL D I T S I	48
Chrysanthemum	MAS--- I SSSAVATVNRTTSAQASMVAPFTGLKSNVAFPVTKKSN-DFSSL	47
Helianthus	MAS--- I SSS-VATVSRTPAQANMVAPFTGLKSNAAFPTTKKAN-DFSTL	46
Lactuca	MAS--- I SSSA I ATVNRTTSTQASLAAPFTGLKSNVAFPVTKKANND FSSL	48
	*** : ** . : . : * : .***** ** : : * * * : : :	
Panax	PSNGGRVQCMK VWPPLGLKKFETLSYLPQLTQEQLSKEVDYLLRSGWVPC	99
Brassica	ASNGGRVSCMKVWPPVGGKKKFETLSYLPDLTEVELGKEVDYLLRNKWI PC	96
Brassica	VSNGGRVSCMKVWPPVGGKKKFETLSYLPDLTEVELGKEVDYLLRNKWI PC	96
Raphanus	ASNGGRVSCMKVWPP I GKKKFETLSYLPDLSDVELAKEVDYLLRNKWI PC	96
Arabidopsis	TSNGGRVSCMKVWPP I GKKKFETLSYLPDLTDVELAKEVDYLLRNKWI PC	96
Glycine	ASNGGRVQCMQVWPPVGGKKKFETLSYLPDLDDAQLAKEVEYLLRKGWI PC	96
Nicotiana	ASNGGRVQCMQVWPP I NKKKYETLSYLPDLSQEQLLSE I EYLLKSGWVPC	98
Chrysanthemum	PSNGGRVQCMK VWPPLGLKKYETLSYLPPLTETQLAKEVEYLLRNK W VPC	97
Helianthus	PSNGGRVQCMK VWPPLGLKKYETLSYLPPLTETQLAKEVDYLLRKKWVPC	96
Lactuca	PSNGGRVQCMK VWPPLGLKKYETLSYLPPLSDEALSKE I DY L I RNKWI PC	98
	***** . ** : ***** . ** : ***** * : * . * : : * : : . * : **	
Panax	LEFELEHGFVYREHHSPGYDGRYWTMMKLPFMFGCTDSSQVLKEVEECK	149
Brassica	VEFELEHGFVYREHGSTPGYYDGRYWTMMKLP LFGCTDSAQVLKEVQECK	146
Brassica	VEFELEHGFVYREHGSTPGYYDGRYWTMMKLP LFGCTDSAQVLKEVQECK	146
Raphanus	VEFELEHGFVYREHGSTPGYYDGRYWTMMKLP LFGCTDSAQVLKEVQECK	146
Arabidopsis	VEFELEHGFVYREHGNTPGYYDGRYWTMMKLP LFGCTDSAQVLKEVEECK	146
Glycine	LEFELEHGFVYREHNRS PGYYDGRYWTMMKLPFMFGCTDASQVLKELQEAK	146
Nicotiana	LEFETERGFVYREHHSPGYDGRYWTMMKLPFMFGCTDATQVLAEEVEEK	148
Chrysanthemum	LEFELEHGFVYRENRRSPGYDGRYWTMMKLPFMFGCNDASQVLKELNECK	147
Helianthus	LEFELEHGFVYRENARSPGYDGRYWTMMKLPFMFGCTDSAQVMKELAECK	146
Lactuca	LEFELEHGFVYREHHSPGYDGRYWTMMKLPFMFGCTDSAQVMKEVGECK	148
	: *** * : ** * ** : : ***** : ***** : ** . * : : * : : * . *	
Panax	KEYPNAY I R I I GFDNVRQVQC I S F I AFKPPSAST-	183
Brassica	TEYPNAF I R I I GFDNNRQVQC I S F I AYKPPSFTGA	181
Brassica	TEYPNAF I R I I GFDNNRQVQC I S F I AYKPPSFTGA	181
Raphanus	KEYPNAL I R I I GFDNNRQVQC I S F I AYKPPSFTDA	181
Arabidopsis	KEYPGAF I R I I GFDNTRQVQC I S F I AYKPPSFTDA	181
Glycine	TAYPNGF I R I I GFDNVRQVQC I S F I AYKPPGX---	178
Nicotiana	KAYPQAWVR I I GFDNVRQVQC I S F I AYKPEGY---	180
Chrysanthemum	KEYPQSWVR I I GFDNVRQVQC I S F I AHKPDGY---	179
Helianthus	KEYPQAW I R I I GFDNVRQVQC I M F I ASRPDGY---	178
Lactuca	KEYPNAF I R V I GFDN I RQVQC I S F I VAKPPGVL---	181
	. ** . : * : ***** ***** ** . : * .	

Fig. 2. Comparison of the amino acid residues of ginseng rbcS (AB236868) with *Brassica napus* (CAA39402), *Brassica napus* (CAA43410), *Raphanus sativus* (CAA29801), *Arabidopsis thaliana* (AAN28753), *Glycine max* (AAG24884), *Nicotiana plumbaginifolia* (CAA31994), *Chrysanthemum x morifolium*, *Helianthus annuus* (CAA68490), and *Lactuca sativa* (Q40250). Amino acid sequences were aligned using the CLUSTAL W program (1.82).

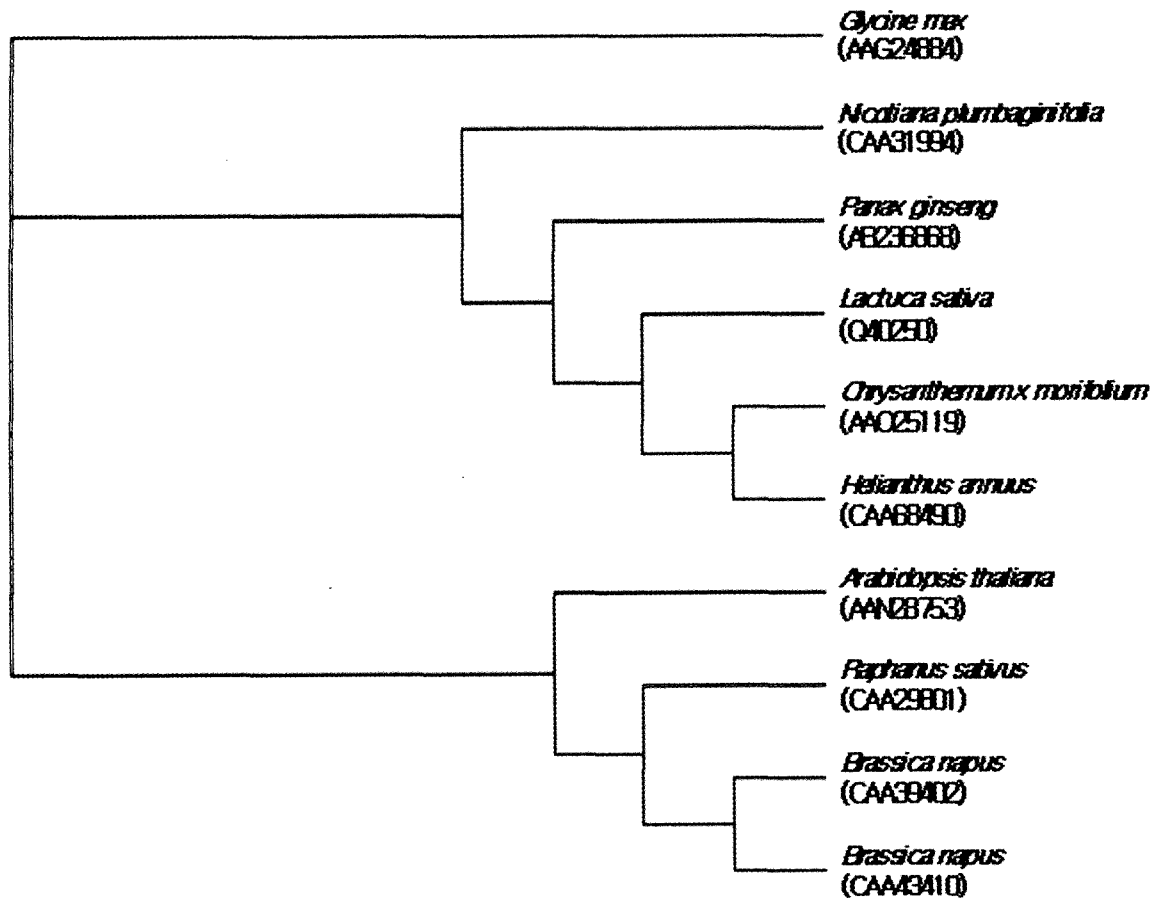


Fig. 3. Phylogenetic analysis of the *rbcS* isolated from ginseng and other plants. The phylogenetic tree was reconstructed by UPGMA. The respective accession number is described next to plant name.

인용문헌

- Akazawa T., T. Takabe and H. Kobayashi. 1984. Molecular evolution of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Trends Biochem. Sci.* 9:380-383.
- Altschul S.F., W. Gish, W. Miller, E.W. Myers and D.J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215: 403-410.
- Dean C., E. Pichersky and P. Dunsmuir. 1989. Structure, evolution and regulation of *rbcS* genes in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40:415-439.
- Ellis R.J. 1981. Chloroplast proteins: synthesis, transport and assembly. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32:111-137.
- Gilmartin, P.M., L. Sarokin, J. Memelink and N.H. Chua. 1990. Molecular light switches for plant genes. *The Plant Cell* 2:369-378.
- Jensen R.G. and J.T Bahr. 1977. Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 28:379-400.
- Keegstra K., L.J. Olsen and S.M. Theg. 1989. Chloroplastic precursors and their transport across the envelope membranes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40:471-501.

- Kuhlmeier C., P.J. Green and Chua M.H. 1987. Regulation of gene expression in higher plant. *Ann. Rev. Plant Physiology* 38:221-257.
- Lee, J.H., Y.P. Lim, J.C. Park and K.T. Choi. 1995. Cloning of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbcL*) gene from Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Korean J. Ginseng Sci.* 19:51-55.
- Manzara, T. and W. Gruissem. 1988. Organization and expression of the genes encoding ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in higher plants. *Photosynth. Res.* 16:117-139.
- Morris P.C., A. Kumar, D.J. Bowles and A.C. Cuming. 1990. Osmotic stress and abscisic acid regulate the expression of the Em gene of wheat. *Eur. J. Biochem.* 190:625-630.
- Stiekema W.S., C.F. Wimpee, J. Silverthorne and E.M. Tobin. 1983. Phytochrome control of the expression of two nuclear genes encoding chloroplast proteins in *Lemna gibba* L. *Plant Physiology* 72:717-724.
- Thompson J.D., D.G. Higgins and T.J. Gilbson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22:4673-4680.
- Tobin E.M. 1981. Phytochrome mediated regulation of messenger RNAs for the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and light harvesting chlorophyll a/b protein in *Lemna gibba*. *Plant Mol. Biol.* 1:35-51.
- Tobin E.M. and J. Silverthorne. 1985. Light regulation of gene expression in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36:569-593.

(접수일 2005. 3. 20)

(수락일 2005. 7. 20)