

The Biological Functions of Plant Long Noncoding RNAs

Jee Hye Kim and Jae Bok Heo*

Department of Molecular Genetic Engineering, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received September 20, 2016 / Revised September 24, 2016 / Accepted September 26, 2016

With the development of next generation sequencing (NGS), large numbers of transcriptional molecules have been discovered. Most transcripts are non-coding RNAs (ncRNAs). Among them, long non-coding RNAs (lncRNAs) with more than 200 nucleotides represent functional RNA molecule that will not be translated into protein. In plants, lncRNAs are transcribed by RNA polymerase II (Pol II) or Pol III, Pol VI and Pol V. After transcription of these lncRNAs, more RNA processing mechanisms such as splicing and polyadenylation occurs. The expression of plant lncRNAs is very low and is tissue specific. However, these lncRNAs are strongly induced by specific external stimuli. Because different external stimuli including environmental stresses induce a large number of plant lncRNAs, these lncRNAs have been gradually considered as new regulatory factors of various biological and development processes such as epigenetic repression, chromatin modification, target mimicry, photomorphogenesis, protein relocalization, environmental stress response, pathogen infection in plants. Moreover, some lncRNAs act as precursor of short RNAs. Although a large number of lncRNAs have been predicted and identified in plants, our current understanding of the biological function of these lncRNAs is still limited and their detailed regulatory mechanisms should be elucidated continuously. Here, we reviewed the biogenesis and regulation mechanisms of lncRNAs and summarized the molecular functions unraveled in plants.

Key words : Environmental stress, long non-coding RNA, plant development, target mimicry, small RNA

서 론

유전정보 흐름의 중심적 정설은 DNA에서 RNA로 전사가 일어나고, 다시 RNA에서 단백질로 번역이 일어나는 것으로 알려져 있다. RNA 분자들은 DNA에서 세포적 기능과 궁극적인 표현형을 결정하는 단백질로 번역이 되는 과정에서 단지 유전정보의 전달자들로 기능을 하는 것으로 알려졌다. 최근 10여년 동안 비번역 RNA (non-coding RNA)들의 기능이 밝혀지면서 유전정보 흐름의 중심적 정설도 좀 더 확장 되었다. 최근 보고에 따르면 진핵생물 유전체의 90% 이상의 영역에서 전사체가 만들어지고, 만들어진 전사체들 중 1-2% 정도만 단백질로 번역되어 세포내 다양한 대사활동을 수행하는 것으로 보고 되었다[5, 57, 19]. 이 보고를 통해 짐작할 수 있는 것은 진핵세포의 유전체에서는 수많은 전사체들이 단백질 번역에 참여하지 않는 비번역 RNA들임을 짐작할 수 있다. 또한 최근 연구보고에 따르면 진핵세포의 유전체에는 기능이 있는 수많

은 housekeeping 또는 조절 RNA들을 암호화 하는 유전자들이 포함되어 있다고 보고 되었다[9, 49, 51]. 조절 RNA들은 일반적으로 2 가지 형태로 나누어진다. 전체 뉴클레오티드 길이가 200 bp 이하인 small ncRNA와 전체 뉴클레오티드 길이가 200 bp 이상인 long ncRNA (lncRNA)들로 구분된다[26, 24, 44]. Small ncRNA에 속하는 것들은 microRNA (miRNA)와 small interfering RNA (siRNA)들이 포함된다. 유전자의 반대 DNA 가닥으로부터 전사가 되는 natural antisense transcripts (NATs)와 인트론에서 전사되는 intronic ncRNA, 그리고 두 유전자 사이 영역에서 전사되는 long intergenic ncRNA (lincRNA)들은 lncRNA들로 분류된다[17, 28, 40, 42]. 이들 RNA들의 공통적인 특징은 단백질로 번역이 되지 않는 전사체들이라는 것이다[24, 26]. Small ncRNA들의 경우 분자수준에서 기능 및 기작연구가 많이 진척이 된 반면, lncRNA들은 이들의 기능적 이해와 조절기작 연구가 많이 이루어지지 않아 관련 연구가 많이 요구되는 실정이다. 최근 연구에 따르면 lncRNA들은 DNA 메틸레이션 또는 디메틸레이션, RNAi, 히스톤 변형, 크로마틴 리모델링등에 있어 중요한 구성요소로 작용하여 진핵생물 내에서 유전자 조절에 관여함이 보고되고 있다[4, 23, 54]. 이 총설 논문에서는 식물 lncRNA들에 의한 유전자발현의 후성유전학적 조절기작에 대한 개요와 식물세포 내에서 lncRNA의 기능적 역할에 대한 이해를 도울 수 있는 보고들을 바탕으로 알려진 기능들을 논하고 앞으로 식물

*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7520, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : jbeho72@dau.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

lncRNA의 농업생명공학에서의 차지할 위치를 논하고자 한다.

LncRNA의 분리 및 동정

2002년 Okazaki 그룹에서 동물세포를 이용해 대규모 full-length cDNA library 염기서열 분석 실험에서 기대치 않은 많은 수의 lncRNA들을 분리 동정하였다[43]. 또한 whole-genome tiling array와 RNA 염기서열 분석을 통해 식물과 동물 세포 내에서 많은 lncRNA들을 분리하였다[7, 41, 45]. 분리된 lncRNA들을 살펴 보았을 때, 전사되는 영역이 다양하게 나타남을 발견하였다. 어떤 lncRNA들은 유전자와 유전자 사이에서 또는 인트론에서, 또 다른 lncRNA들은 단백질을 암호화하는 지역과 겹쳐지는 것들도 발견이 되었다. 이와 더불어 이들 lncRNA들은 단백질을 암호화 하는 전사체들의 근처에서 정방향 또는 역방향으로 전사됨이 밝혀졌고, 이를 통해 세포 내 다양하고 수많은 lncRNA 전사체들이 생산되는 것을 짐작할 수 있다. 현재로서 수많은 lncRNA들이 단백질을 암호화 또는 비암호화하는 전사체 인가를 구분 할 수 있는 방법으로 full-length targeted cDNA 염기서열 분석법이 최선으로 알려져 있으나, 시간이 오래 걸리고 비용이 비싸다는 단점을 갖고 있다. 대안으로 tiling DNA microarray를 수행함으로 식물에서 lncRNA들의 발현 수준 정보를 얻어낼 수 있게 되었고, 또한 애기장대 식물체에서 스트레스에 유도 되는 새로운 종류의 lncRNA들이 동정되었으며[37, 46], 벼에서는 유전자와 유전자 사이에서 전사되는 lincRNA들도 동정되었다[30]. 이러한 염기서열 분석 기술의 발달로 인해 기능성을 가진 lncRNA들이 많이 동정 되었는데 주로 lncRNA들의 발현 패턴과 프로모터나 유전자 내에 표시되는 크로마틴 마크 표시들(H3K4me3나 H3K36me3) 통해 동정 되었다[18, 27]. 그러나 많은 lncRNA들이 특이적인 조건이나 특이적인 조직에서 발현 되고, 또한 대부분의 lncRNA들의 발현 수준은 아주 미세하기 때문에 염기서열 분석 기술만으론 모든 기능성 lncRNA들의 기능과 특성을 밝히는 것은 쉽지 않을 것으로 여겨진다.

식물에서는 lncRNA들이 주로 RNA 중합효소 2(Pol II)나 Pol III, Pol IV와 Pol V에 의해서 전사가 된다[14, 56, 15]. 이들 전사체들은 성숙한 RNA로 변화되기 위해 스프라이싱(splicing) 또는 비스프라이싱(non-splicing) 기작과 3' 말단에 아데닌을 첨가시키는 polyadenylation 또는 non-polyadenylation 등과 같은 RNA 프로세싱 기작을 가진다[56]. 이러한 프로세싱 과정이 끝난 후 이들 RNA들은 핵 또는 세포질로 보내져 다양한 대사활동에 관여하게 된다. 최근 들어 다양한 lncRNA들의 기능들이 여러가지 기술에 의해 밝혀지고 있지만, 식물 lncRNA의 경우 동물이나 효모와 비교할 때 적은 연구 인력과 제한된 연구환경 등으로 인해 그 기능들이 많이 밝혀지지 않은 상태이다. 현재까지 보고된 식물 lncRNA의 기능들인 크로마틴 변형, small RNA 전구체, 타겟 모방(target mimicry), 광형태 형성, 병원균 감염, 스트레스 반응과 식물의 생장 발달에 관련된

기능들에 대해 언급하고자 한다[21, 31, 58, 61].

식물 lncRNA의 크로마틴 변형

식물에서 처음으로 기능이 밝혀진 COLD-ASSISTED INTRONIC NONCODING RNA (COLDAIR)는 tiling race RT-PCR 방법에 의해 분리되었으며, 개화 억제유전자인 *Flowering locus C (FLC)* 유전자의 인트론에서 전사되는 lncRNA로서 크로마틴 변형에 관여한다[21]. COLDAIR는 5' cap 구조를 가지고 있으며, 3' 쪽에 polyadenylation 영역은 존재하지 않았다. 그리고 COLDAIR는 저온처리에 의해 전사가 촉진되고 20일 춘화처리 이후 전사체량이 최고에 이른다. 흥미로운 점은 COLDAIR는 춘화처리 기간동안 Polycomb Repressive Complex2 (PRC2)의 핵심 구성요소인 CURLY LEAF (CLF) 단백질과 결합 하고, 춘화기간 동안 PRC2 복합체를 FLC 염색질 상으로 유도하여 repressive chromatin marker H3K27me3 분포를 증가시킨다[21]. 이로 인해 FLC 염색질은 이질 염색질로 변형되어 FLC 전사는 억제된다[21]. 현재까지 COLDAIR와 유사한 기능을 가진 식물의 lncRNA는 아직 동정되지 않았고, COLDAIR와 유사한 기능을 하는 동물의 HOTAIR와 효모의 Xist는 그 기능이 이미 잘 보고 되었다[25, 63]. 이들 lncRNA들의 공통적인 특징은 PRC2 복합체와 상호작용하는 것이지만 이 상호작용을 통한 상세한 기능에 대해서는 더 연구가 필요하며 이것은 후성 유전학적인 억제 기작에 관련되어질 것으로 예상된다.

또 다른 최근 연구에 따르면 lncRNA들이 PRC1 복합체의 타겟 크로마틴으로 PRC1 복합체 단백질을 유도하는데 관여한다고 보고 되었다[62]. PRC1은 히스톤 마크인 H3K27me3을 인식하고 PRC2 복합체와 함께 안정한 전사적 억제를 수행시키는 복합체 단백질이다. 식물의 경우 PRC1은 기능하는 두 개의 단백질 서브유닛으로 나누어져 있다. 첫째 LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN1 (LHP1)은 H3K27me3와 결합하고 식물 유전체 상에 표시되어 있는 H3K27me3 마크와 함께 위치하고 있다[52, 62]. 또한 *lhp1* 돌연변이체들은 PcG 돌연변이체들이 나타내는 잎이 둥글게 말리는 표현형과 개화 촉진, 춘화 반응이 불완전한 표현형을 나타내었다[39, 50]. 이는 LHP1 단백질이 PRC1으로 기능을 한다고 예상 할 수 있다. 식물의 또 다른 PRC1 기능을 하는 단백질로 EMF1과 VRN1을 들 수 있는데 이들은 염기서열 비특이적 결합을 하는 DNA결합 단백질로 PRC1과 유사한 기능을 하는 것으로 보고되었다[1, 2]. 이들 단백질들은 여러 개의 다른 단백질들과 복합체를 이루면서 후성유전학적 억제복합체로서 기능을 수행 할 것으로 예상된다. 하지만 이들 복합체 단백질들이 식물체 내에서 동물이나 효모 시스템과 같이 lncRNA들과 상호작용하여 타겟 크로마틴으로 유도 되는가에 대한 의문은 여전히 남아 있고, 어떤 lncRNA에 의해서 이러한 기작들이 유도 되는가에 대한 연구 역시 필요 할 것이다.

식물에서 두번째로 기능이 밝혀진 lncRNA인 *COLD-INDUCED LONG ANTISENSE INTRAGENIC RNA (COOLAIR)*는 *COLDAIR*와 같은 *FLC* locus에서 전사가 되고, *FLC*의 전사 방향과 반대방향인 역방향으로 전사가 일어나는 것으로 보고되었다[35]. *COOLAIR*의 발현은 춘화경로의 다른 구성요소인 *COLDAIR*와 *VIN3*의 기능적 개시에 상관없이 *FLC*의 전사레벨 감소 시점인 초기 춘화과정에서 시작된다. 이로 인해 *COOLAIR*는 춘화과정 중 *FLC*의 발현이 억제되는 초기에 필요로 하는 인자일 것으로 예상되었다[35]. 하지만 T-DNA 삽입 돌연변이를 이용한 실험에서 *COOLAIR*는 초기 춘화과정에 *FLC*억제에 필요하지 않음이 보고되었다[20].

MiRNA와 siRNA들의 전구체(Precursor)

RNA들의 조절자(riboregulator)들이 밝혀지면서 일부 lncRNA들은 miRNA와 siRNA를 포함한 short RNA (sRNA)들로 기능하기 위해 프로세싱 된다[22]. 어떤 lncRNA들은 직접적으로 miRNA와 siRNA와 같은 작은 조절 RNA들의 원초적인 전사체 들이다. 단백질을 암호화 하는 유전자들과 일부 lncRNA들처럼 miRNA의 원초적 전사체 (pri-miRNA) 유전자들은 RNA Pol II에 의해 전사가 된다[29]. 척추동물과 초파리와는 달리 식물의 miRNA들은 적은 구성요소로 이루어져 있지만 좀 더 복잡한 조절 메커니즘과 적은 RNA pool로 이루어져 있다. 식물 sRNA의 복잡성은 siRNA들을 의존적으로 생성시키는 식물 특이적인 RNA pol IV/V 존재성과 2차적 내생 siRNA들을 생성시키는 RNA Pol 들의 존재에 기인 할 수 있다 [10]. RNA Pol IV/V에 의한 siRNA들의 생성 경로는 식물 특이적인 lncRNA들을 생산하고 이를 RNA Pol IV/V 의존적 lncRNA들이라 부르고, 이들은 RNA-directed DNA methylation (RdDM)에 기능을 하는 것으로 알려져 있다[28].

최근 애기장대의 Full-length cDNA database 분석에 의해서 여러 개의 24-nt siRNA들이 동정 되었는데 이들은 npc34, npc351, npc375, npc520, npc523과 같은 5개의 lncRNA들과 뉴클레오티드가 일치하였다. 이들 5개의 lncRNA에서 유도된 siRNA들은 lncRNA 영역의 양 가닥에 위치함이 확인되었다 [3]. 또 다른 예로 miRNA869a와 miRNA160c는 npc83과 npc521에 의해서 성숙 되는 것이 보고되었다[22]. 이러한 보고들은 이들 lncRNA들이 sRNA의 전구체 임을 나타내는 것이다[3].

MiRNA의 타겟 유전자 모방(Target mimicry)

*INDUCED BY PHOSPHATE STARVATION 1 (IPS1)*는 다른 특이적 기능을 하는 lncRNA로서 알려져 있는데 miRNA를 유인하는 인자로서 동정되었다[59]. *IPS1*은 miRNA399에 상보적인 뉴클레오티드를 가지며, 이로 인해 *IPS1*은 miRNA399와 상호결합 하여 miRNA399의 타겟 유전자와의 결합을 방해하고 그 기능을 격리시키는 기능을 한다[16]. 식물에서 *IPS1*의

발현은 miRNA399의 타겟유전자들의 발현이 유도 되는 인산결핍 조건에서 그 발현이 유도되고, 줄기상의 인산 함량을 변화시키는 기능을 한다[16]. 최근 보고된 연구결과에 따르면 *IPS1*과 비슷한 기능을 하는 lncRNA들이 애기장대, 토마토, 클로버, 알팔파와 대두에서 동정 되었다[6, 16, 32, 36]. 대표적인 예로서 애기장대의 *At4*는 *IPS1*과 유사하게 인산결핍의 조건에서 발현이 유도 되고[48], *At4* 돌연변이체의 경우 인산결핍 조건에서 뿌리에 존재하는 인산의 정확한 재분배 문제가 야기됨이 보고 되었다[48]. *IPS1*와 *At4*는 miRNA399와 상보적인 염기서열을 가지기 때문에 miRNA의 타겟 유전자인 *PHO2*를 대신해서 miRNA와 결합 하고, 이로 인해 *IPS1*와 *At4*는 miRNA399의 *PHO2* 유전자 억제 기능을 방해하는 역할을 한다고 할 수 있다[48].

광형태 형성(Photomorphogenesis)

최근 애기장대에서 genome-wide 동정법을 통해 새로운 polyadenylation이 되어 있지 않은 50-300 뉴클레오티드로 이루어진 intermediate-size ncRNA (im-ncRNA)들이 밝혀졌다 [55]. Im-ncRNA들은 알려진 다른 lncRNA들과 염기서열의 유사성을 가지고 있지 않았다. Wang 그룹에서는 광형태 형성에 관련되는 im-ncRNA들을 선별하였고, 그 중 *HIDDEN TREASURE 1 (HID1)*이라고 하는 ncRNA를 동정하였다. *HID1*은 236개의 뉴클레오티드를 가지며 애기장대 내에서 붉은빛에 의해 유도되는 어린 식물의 광형태 형성을 조절함이 보고되었다[54]. *HID1* knock-out 돌연변이체의 경우 광형태 형성에서 핵심 억제 단백질인 *PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 3 (PIF3)* 전사인자 발현을 증가시킴으로 붉은빛 노출에 의한 광형성 형태 표현형이 감소되었다. 생화학적 분석 실험으로 *HID1*의 세포 내 위치를 확인했을 때 일부 핵과 크로마틴에 결합되어 있음을 확인하였다. 이 결과로 볼 때 *HID1* lncRNA는 *PIF3* 프로모터에 직접적으로 유전자 침묵현상을 유도한다고 보여진다[54]. *HID1*의 경우 염기서열과 RNA 구조 정렬 방법을 통해서 다른 식물종에 homolog들이 존재함을 알게 되었고, 이는 *HID1*이 진화적으로 외떡잎 또는 쌍떡잎 식물에 잘 보존 되어 있음을 시사하고 있다.

단백질의 기관 재배치(relocalization)

EARLY NODULIN 40 (ENOD40) RNA는 특이적인 형태의 lncRNA이다. *ENOD40* RNA는 콩과 식물과 콩과 식물이 아닌 다양한 식물에서도 유사성을 나타내는 RNA들이 전사가 되어 기능을 함이 보고되었다[38, 60]. 이들 RNA들은 보존된 RNA 구조를 형성 하는 영역을 가지고 있으며, 짧은 펩타이드를 암호화 하고 있다[11, 47, 49]. *Medicago truncatula*의 *ENOD40* RNA로 부터 번역이 된 짧은 펩타이드는 생체내에서 생물학적인 기능들을 조절하고, 대두의 *ENOD40* RNA로부터 합성이 된 짧은 펩타이드는 당 합성 효소(Sucrose synthase)와 상호작

용하여 대두 내 당을 효과적으로 이용하는데 기능을 하는 것으로 보고되었다[47]. 추가로 *ENOD40* RNA로서 기능은 RNA 결합 단백질(MtRBP1)과 직접적인 상호작용을 하고 이들 단백질의 세포내 위치를 핵에서 세포기질로 옮겨 재배치 시켜주는 역할을 하는 것으로 보고되었다[8]. MtRBP1 단백질과 함께 *ENOD40* RNA의 공동 발현은 MtRBP1 단백질의 re-localization에 있어 필수적이지만, *ENOD40* RNA에 의해 합성되는 짧은 펩타이드는 단백질 재배치 조절 메커니즘에는 관여하지 않는 것으로 보고되었다[8]. 더불어 *ENOD40* RNA의 보존된 RNA 구조는 이들 RNA에 의해 번역된 짧은 펩타이드 보다 생물학적으로 더 중요한 기능을 수행한다고 보고되었다. 그러나 이들의 짧은 펩타이드들도 다른 lncRNA들 이상으로 다양한 기능을 수행하는 것으로 보고되었다.

환경스트레스 내성반응

*Fusarium oxysporum*이 감염된 애기장대 식물체를 이용하여 RNA 가닥 특이적인 RNA-sequencing 방법을 통해 병원균 감염에 반응하는 lncRNA들이 동정 되었고, 이들 lncRNA들은 병원균에 대한 내성에 있어 중요한 구성요소로 보고되었다[64]. Zhu 그룹에서는 *F. oxysporum*에 의해 유도되는 transcriptionally active regions (TARs)을 발견했고 이들 TAR 영역을 이용하여 knock-down 애기장대 형질전환 식물체를 제작 하였을 때 병 발병율이 증가 되는 것을 발견하였다[64]. 추

가로 Zhu 그룹에서는 *F. oxysporum* 처리에 반응하는 lncRNA 들 뿐만이 아니라 많은 lincRNA들도 동정하였는데, 이들의 50% 정도는 식물이 *F. oxysporum* 감염에 저항성을 유도하는데 중요한 역할을 할 것으로 예상했다[64]. 그러나 이들 lincRNA 의 자세한 조절 메커니즘에 대해서는 보고된바 없고 이후 지속적인 연구가 필요 할 것으로 여겨진다.

Amor 그룹에서는 애기장대 다양한 스트레스 처리 후 cDNA 분석실험에서 많은 lncRNA들을 분리 및 동정하였는데, 그 중 *Npc36* lncRNA는 인산 결핍과 고염 스트레스 조건에서 애기장대의 뿌리와 잎에서 전사레벨이 증가 된다[3]. *Npc36* 과다발현 형질전환 애기장대 식물체는 고염하에 원뿌리와 잔뿌리의 생장의 증가를 보였다[3]. 벼의 LDMAR lincRNA는 장일조건하에 벼의 pollen에서 전사레벨이 증가 되고, 광주기에 민감하게 수술의 불임(male sterility)을 유도하고 벼의 생장과 발달에 관여하는 것으로 보고되었다[12]. 이러한 결과들은 lncRNA들이 식물의 생장과 환경스트레스에 반응하는 인자로 역할 함을 나타낸다.

결론

식물 lncRNA들은 전체적으로 전사레벨이 매우 낮고, 식물 조직 특이적으로 발현 된다. 더욱이 이들 전사체들은 여러 환경스트레스의 자극에 의해서 전사레벨이 크게 증가되거나 또는 감소되는 경향을 보인다[31, 32]. 이들 lncRNA들은 각기 다른 환경스트레스 자극과 조직 특이적 발현 현상 때문에 이들 RNA들은 식물의 생장과 발달 그리고 환경스트레스 반응에 새로운 조절인자로 고려되고 있다. 지금까지 가뭄, 고염, 저온, ABA 호르몬에 의해 전사가 유도되는 1,832개의 lncRNA들이 애기장대 내에서 동정 되었다. 유사한 방법으로 powdery mildew 감염과 고온스트레스에 의해 반응하는 125 개의 lncRNA도 밀에서 동정 되었다. 이외에도 많은 그룹들이 NGS 기법을 이용한 다양한 식물로부터 환경스트레스에 의해 전사가 활성화 되는 lncRNA들 동정이 많이 이루어 졌다. 하지만 현재까지 이들 식물 lncRNA의 기능 및 특성이 규명된 것은 몇몇 lncRNA에 국한된다[13, 21, 34, 58]. lncRNA들은 단백질을 암호화하는 RNA들에 비해 돌연변이체들이 드물며, 또한 돌연변이 구축도 쉽지가 않은 상황에서 전통적인 reverse genetic 방법인 과다발현 lncRNA 제작과 RNAi 통해 knock-down lncRNA 돌연변이체를 제작하여 lncRNA의 기능적 연구를 수행해 왔지만, 최근 가장 인기 있는 CRISPR/Cas9 유전자 가위 시스템을 이용한다면 lncRNA의 기능과 조절 메커니즘을 동정하는데 좋은 대안이 될 것으로 기대된다.

또 앞서 언급한 바와 같이 식물의 lncRNA들은 생물학적 또는 비생물학적 환경스트레스의 반응에 기능을 하는 것으로 보여지고, 이는 농업생명공학 분야에 있어 아주 유용하게 사용될 수 있는 인자로 그 가치가 인정 된다. 이로 인해 많은

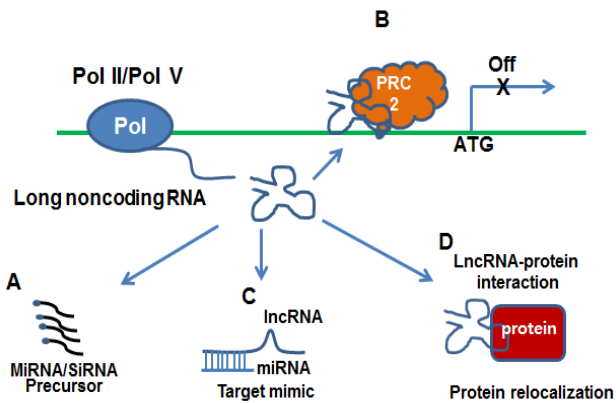


Fig. 1. Schematic model for the biological roles of plant lncRNAs. (A) Plant lncRNAs are transcribed by RNA Polymerase II or V and then transcribed lncRNAs form secondary structure. (A) Some lncRNAs act as short RNA precursors. (B) Epigenetic repression by lncRNA. lncRNAs are induced by some specific condition, and interact and recruit PRC2 complex to target gene locus for epigenetic repression of target gene. (C) Target mimics of lncRNA. Some lncRNA binds to miRNA and plays a role as a target mimic for miRNA to inhibit miRNA function. (D) Protein relocalization of lncRNA. lncRNA interacts with some protein to relocalize the protein from nuclear speckles to cytoplasmic granules.

식물연구자들이 다양한 환경스트레스에 의해서 유도되는 lncRNA들을 동정하고 그 기능을 밝히고자 하는 이유가 여기에 있는 것으로 생각된다. 많은 양의 빅데이터 분석과 분류를 통해 식물 lncRNA들이 계속해서 분리 되고 있는데, 이는 식물의 성장 발달 및 환경스트레스 반응에 있어 이들 lncRNA의 기능과 조절 메커니즘을 밝히는 시발점이라 생각된다. 지속적인 연구를 통해 이미 밝혀진 식물 lncRNA들의 기능뿐만 아니라 새로운 조절 기작과 식물의 성장발달에 있어 중요한 기능들이 계속해서 밝혀져야 할 것으로 생각된다. 식물 lncRNA들의 조절 메커니즘 연구를 보다 심도있게 추진해 나가기 위해서는 각 lncRNA들의 기능적 모티프와 구조들을 비교 분석하는 연구가 필요하다. 또 식물 lncRNA의 타겟 유전자를 찾아내는 기술을 개발한다면 복잡해 보이는 식물 lncRNA 조절 메커니즘 연구에 초석이 될 수 있을 것으로 생각되고, 특히 식물의 성장과 발달에 있어 밝히지 못했던 lncRNA의 기능들이 좀 더 쉽게 밝혀 낼 수 있을 것으로 생각된다. 이제 곧 유전자와 단백질과 더불어 lncRNA들도 미래 농업생명공학 기술에 응용될 잠재적인 인자로 인정받을 날이 올 것이라 여겨진다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 농촌진흥청의 재원으로 차세대바이오그린 21 시스템합성농생명사업단의 지원을 받아 수행된 연구임(SSAC, grant#: PJ011106)

References

- Aubert, D., Chen, L., Moon, Y. H., Martin, D., Castle, L. A., Yang, C. H. and Sung, Z. R. 2001. EMF1, a novel protein involved in the control of shoot architecture and flowering in Arabidopsis. *Plant Cell* **13**, 1865-1875.
- Bastow, R., Mylne, J. S., Lister, C., Lippman, Z., Martienssen, R. A. and Dean, C. 2004. Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature* **427**, 164-167.
- Ben Amor, B., Wirth, S., Merchan, F., Laporte, P., d'Aubenton-Carafa, Y., Hirsch, J., Maizel, A., Mallory, A., Lucas, A., Deragon, J. M., Vaucheret, H., Thermes, C. and Crespi, M. 2009. Novel long non-protein coding RNAs involved in Arabidopsis differentiation and stress responses. *Genome Res.* **19**, 57-69.
- Bi, X. 2012. Functions of chromatin remodeling factors in heterochromatin formation and maintenance. *Sci. China Life Sci.* **55**, 89-96.
- Birney, E., et al. 2007. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* **447**, 799-816.
- Boerner, S. and McGinnis, K. M. 2012. Computational identification and functional predictions of long noncoding RNA in *Zea mays*. *PloS one* **7**, e43047.
- Cabili, M. N., Trapnell, C., Goff, L., Koziol, M., Tazon-Vega, B., Regev, A. and Rinn, J. L. 2011. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. *Genes. Dev.* **25**, 1915-1927.
- Campalans, A., Kondorosi, A. and Crespi, M. 2004. Enod40, a short open reading frame-containing mRNA, induces cytoplasmic localization of a nuclear RNA binding protein in *Medicago truncatula*. *Plant Cell* **16**, 1047-1059.
- Chen, L. L. and Carmichael, G. G. 2010. Decoding the function of nuclear long non-coding RNAs. *Curr. Opin. Cell Biol.* **22**, 357-364.
- Chen, X. 2009. Small RNAs and their roles in plant development. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* **25**, 21-44.
- Crespi, M. D., Jurkevitch, E., Poirer, M., d'Aubenton-Carafa, Y., Petrovics, G., Kondorosi, E. and Kondorosi, A. 1994. enod40, a gene expressed during nodule organogenesis, codes for a non-translatable RNA involved in plant growth. *EMBO J.* **13**, 5099-5112.
- Ding, J., Shen, J., Mao, H., Xie, W., Li, X. and Zhang, Q. 2012a. RNA-directed DNA methylation is involved in regulating photoperiod-sensitive male sterility in rice. *Mol. plant* **5**, 1210-1216.
- Ding, J., Lu, Q., Ouyang, Y., Mao, H., Zhang, P., Yao, J., Xu, C., Li, X., Xiao, J. and Zhang, Q. 2012b. A long non-coding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 2654-2659.
- Dinger, M. E., Pang, K. C., Mercer, T. R. and Mattick, J. S. 2008. Differentiating protein-coding and noncoding RNA: challenges and ambiguities. *PLoS Comput. Biol.* **4**, e1000176.
- Dinger, M. E., Pang, K. C., Mercer, T. R., Crowe, M. L., Grimmond, S. M. and Mattick, J. S. 2009. NRED: a database of long noncoding RNA expression. *Nucleic Acids Res.* **37**, D122-126.
- Franco-Zorrilla, J. M., Valli, A., Todesco, M., Mateos, I., Puga, M. I., Rubio-Somoza, I., Leyva, A., Weigel, D., Garcia, J. A. and Paz-Ares, J. 2007. Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity. *Nature Genet.* **39**, 1033-1037.
- Guttman, M., Donaghey, J., Carey, B. W., Garber, M., Grenier, J. K., Munson, G., Young, G., Lucas, A. B., Ach, R., Bruhn, L., Yang, X., Amit, I., Meissner, A., Regev, A., Rinn, J. L., Root, D. E. and Lander, E. S. 2011. lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation. *Nature* **477**, 295-300.
- Guttman, M., Amit, I., Garber, M., French, C., Lin, M. F., Feldser, D., Huarte, M., Zuk, O., Carey, B. W., Cassady, J. P., Cabili, M. N., Jaenisch, R., Mikkelsen, T. S., Jacks, T., Hacohen, N., Bernstein, B. E., Kellis, M., Regev, A., Rinn, J. L. and Lander, E. S. 2009. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* **458**, 223-227.
- Hangauer, M. J., Vaughn, I. W. and McManus, M. T. 2013. Pervasive transcription of the human genome produces thousands of previously unidentified long intergenic non-

- coding RNAs. *PLoS Genet* **9**, e1003569.
20. Helliwell, C. A., Robertson, M., Finnegan, E. J., Buzas, D. M. and Dennis, E. S. 2011. Vernalization-repression of Arabidopsis FLC requires promoter sequences but not antisense transcripts. *PLoS One* **6**, e21513.
 21. Heo, J. B. and Sung, S. 2011. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science* **331**, 76-79.
 22. Hirsch, J., Lefort, V., Vankersschaver, M., Boualem, A., Lucas, A., Thermes, C., d'Aubenton-Carafa, Y. and Crespi, M. 2006. Characterization of 43 non-protein-coding mRNA genes in Arabidopsis, including the MIR162a-derived transcripts. *Plant Physiol.* **140**, 1192-1204.
 23. Huang, H. and Jiao, R. 2012. Roles of chromatin assembly factor 1 in the epigenetic control of chromatin plasticity. *Sci. China Life Sci.* **55**, 15-19.
 24. Jia, H., Osak, M., Bogu, G. K., Stanton, L. W., Johnson, R. and Lipovich, L. 2010. Genome-wide computational identification and manual annotation of human long noncoding RNA genes. *RNA* **16**, 1478-1487.
 25. Kaneko, S., Li, G., Son, J., Xu, C. F., Margueron, R., Neubert, T. A. and Reinberg, D. 2010. Phosphorylation of the PRC2 component Ezh2 is cell cycle-regulated and up-regulates its binding to ncRNA. *Genes Dev.* **24**, 2615-2620.
 26. Kapranov, P., Cheng, J., Dike, S., Nix, D. A., Duttagupta, R., Willingham, A. T., Stadler, P. F., Hertel, J., Hackermuller, J., Hofacker, I. L., Bell, I., Cheung, E., Drenkow, J., Dumais, E., Patel, S., Helt, G., Ganesh, M., Ghosh, S., Piccolboni, A., Sementchenko, V., Tammanna, H. and Gingeras, T. R. 2007. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science* **316**, 1484-1488.
 27. Khalil, A. M., Guttman, M., Huarte, M., Garber, M., Raj, A., Rivea Morales, D., Thomas, K., Presser, A., Bernstein, B. E., van Oudenaarden, A., Regev, A., Lander, E. S. and Rinn, J. L. 2009. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 11667-11672.
 28. Kim, E. D. and Sung, S. 2012. Long noncoding RNA: unveiling hidden layer of gene regulatory networks. *Trends Plant Sci.* **17**, 16-21.
 29. Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K. H., Lee, S., Baek, S. H. and Kim, V. N. 2004. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J.* **23**, 4051-4060.
 30. Li, L., Wang, X., Stolc, V., Li, X., Zhang, D., Su, N., Tongprasit, W., Li, S., Cheng, Z., Wang, J. and Deng, X. W. 2006. Genome-wide transcription analyses in rice using tiling microarrays. *Nature Genet.* **38**, 124-129.
 31. Liu, C., Muchhal, U. S. and Raghothama, K. G. 1997. Differential expression of TPS11, a phosphate starvation-induced gene in tomato. *Plant Mol. Biol.* **33**, 867-874.
 32. Liu, J., Wang, H. and Chua, N. H. 2015. Long noncoding RNA transcriptome of plants. *Plant Biotechnol. J.* **13**, 319-328.
 33. Liu, J., Jung, C., Xu, J., Wang, H., Deng, S., Bernad, L., Arenas-Huertero, C. and Chua, N. H. 2012. Genome-wide analysis uncovers regulation of long intergenic noncoding RNAs in Arabidopsis. *Plant Cell* **24**, 4333-4345.
 34. Ma, J., Yan, B., Qu, Y., Qin, F., Yang, Y., Hao, X., Yu, J., Zhao, Q., Zhu, D. and Ao, G. 2008. Zm401, a short-open reading-frame mRNA or noncoding RNA, is essential for tapetum and microspore development and can regulate the floret formation in maize. *J. Cell Biochem.* **105**, 136-146.
 35. Marquardt, S., Raitskin, O., Wu, Z., Liu, F., Sun, Q. and Dean, C. 2014. Functional consequences of splicing of the antisense transcript COOLAIR on FLC transcription. *Mol. Cell* **54**, 156-165.
 36. Martin, A. C., del Pozo, J. C., Iglesias, J., Rubio, V., Solano, R., de La Pena, A., Leyva, A. and Paz-Ares, J. 2000. Influence of cytokinins on the expression of phosphate starvation responsive genes in Arabidopsis. *Plant J.* **24**, 559-567.
 37. Matsui, A., Ishida, J., Morosawa, T., Okamoto, M., Kim, J. M., Kurihara, Y., Kawashima, M., Tanaka, M., To, T. K., Nakaminami, K., Kaminuma, E., Endo, T. A., Mochizuki, Y., Kawaguchi, S., Kobayashi, N., Shinozaki, K., Toyoda, T. and Seki, M. 2010. Arabidopsis tiling array analysis to identify the stress-responsive genes. *Methods Mol. Biol.* **639**, 141-155.
 38. Matvienko, M., Van de Sande, K., Yang, W. C., van Kammen, A., Bisseling, T. and Franssen, H. 1994. Comparison of soybean and pea ENOD40 cDNA clones representing genes expressed during both early and late stages of nodule development. *Plant Mol. Biol.* **26**, 487-493.
 39. Mylne, J. S., Barrett, L., Tessoro, F., Mesnage, S., Johnson, L., Bernatavichute, Y. V., Jacobsen, S. E., Fransz, P. and Dean, C. 2006. LHP1, the Arabidopsis homologue of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, is required for epigenetic silencing of FLC. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 5012-5017.
 40. Nagano, T. and Fraser, P. 2011. No-nonsense functions for long noncoding RNAs. *Cell* **145**, 178-181.
 41. Nam, J. W. and Bartel, D. P. 2012. Long noncoding RNAs in *C. elegans*. *Genome Res.* **22**, 2529-2540.
 42. Ng, J. H. and Ng, H. H. 2010. LincRNAs join the pluripotency alliance. *Nature Genet.* **42**, 1035-1036.
 43. Okazaki, Y., et al. 2002. Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs. *Nature* **420**, 563-573.
 44. Orom, U. A., Derrien, T., Beringer, M., Gumireddy, K., Gardini, A., Bussotti, G., Lai, F., Zytznicki, M., Notredame, C., Huang, Q., Guigo, R. and Shiekhattar, R. 2010. Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell* **143**, 46-58.
 45. Pauli, A., Valen, E., Lin, M. F., Garber, M., Vastenhouw, N. L., Levin, J. Z., Fan, L., Sandelin, A., Rinn, J. L., Regev, A. and Schier, A. F. 2012. Systematic identification of long noncoding RNAs expressed during zebrafish embryogenesis. *Genome Res.* **22**, 577-591.
 46. Rehrauer, H., Aquino, C., Gruissem, W., Henz, S. R., Hilson, P., Laubinger, S., Naouar, N., Patrignani, A., Rombauts, S., Shu, H., Van de Peer, Y., Vuylsteke, M., Weigel, D., Zeller, G. and Hennig, L. 2010. AGRONOMICS1: a new resource for Arabidopsis transcriptome profiling. *Plant Physiol.* **152**,

- 487-499.
47. Rohrig, H., Schmidt, J., Miklashevichs, E., Schell, J. and John, M. 2002. Soybean ENOD40 encodes two peptides that bind to sucrose synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 1915-1920.
 48. Shin, H., Shin, H. S., Chen, R. and Harrison, M. J. 2006. Loss of At4 function impacts phosphate distribution between the roots and the shoots during phosphate starvation. *Plant J.* **45**, 712-726.
 49. Shuai, P., Liang, D., Zhang, Z., Yin, W. and Xia, X. 2013. Identification of drought-responsive and novel *Populus trichocarpa* microRNAs by high-throughput sequencing and their targets using degradome analysis. *BMC Genomics* **14**, 233.
 50. Sung, S., He, Y., Eshoo, T. W., Tamada, Y., Johnson, L., Nakahigashi, K., Goto, K., Jacobsen, S. E. and Amasino, R. M. 2006. Epigenetic maintenance of the vernalized state in *Arabidopsis thaliana* requires LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1. *Nat. Genet.* **38**, 706-710.
 51. Tang, L., Zhang, W., Su, B. and Yu, B. 2013. Long noncoding RNA HOTAIR is associated with motility, invasion and metastatic potential of metastatic melanoma. *Biomed. Res. Int.* **2013**, 251098.
 52. Turck, F., Roudier, F., Farrona, S., Martin-Magniette, M. L., Guillaume, E., Buisine, N., Gagnot, S., Martienssen, R. A., Coupland, G. and Colot, V. 2007. *Arabidopsis* TFL2/LHP1 specifically associates with genes marked by trimethylation of histone H3 lysine 27. *PLoS Genet.* **3**, e86.
 53. Wang, H., Chung, P. J., Liu, J., Jang, I. C., Kean, M. J., Xu, J. and Chua, N. H. 2014a. Genome-wide identification of long noncoding natural antisense transcripts and their responses to light in *Arabidopsis*. *Genome Res.* **24**, 444-453.
 54. Wang, K. C. and Chang, H. Y. 2011. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol. Cell* **43**, 904-914.
 55. Wang, Y., Fan, X., Lin, F., He, G., Terzaghi, W., Zhu, D. and Deng, X. W. 2014b. *Arabidopsis* noncoding RNA mediates control of photomorphogenesis by red light. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111**, 10359-10364.
 56. Wierzbicki, A. T., Haag, J. R. and Pikaard, C. S. 2008. Noncoding transcription by RNA polymerase Pol IVb/Pol V mediates transcriptional silencing of overlapping and adjacent genes. *Cell* **135**, 635-648.
 57. Wilhelm, B. T., Marguerat, S., Watt, S., Schubert, F., Wood, V., Goodhead, I., Penkett, C. J., Rogers, J. and Bahler, J. 2008. Dynamic repertoire of a eukaryotic transcriptome surveyed at single-nucleotide resolution. *Nature* **453**, 1239-1243.
 58. Wu, H. J., Wang, Z. M., Wang, M. and Wang, X. J. 2013. Widespread long noncoding RNAs as endogenous target mimics for microRNAs in plants. *Plant Physiol.* **161**, 1875-1884.
 59. Wu, J., Okada, T., Fukushima, T., Tsudzuki, T., Sugiura, M. and Yukawa, Y. 2012. A novel hypoxic stress-responsive long non-coding RNA transcribed by RNA polymerase III in *Arabidopsis*. *RNA Biol.* **9**, 302-313.
 60. Yang, W. C., Katinakis, P., Hendriks, P., Smolders, A., de Vries, F., Spee, J., van Kammen, A., Bisseling, T. and Franssen, H. 1993. Characterization of GmENOD40, a gene showing novel patterns of cell-specific expression during soybean nodule development. *Plant J.* **3**, 573-585.
 61. Zhang, X., Germann, S., Blus, B. J., Khorasanizadeh, S., Gaudin, V. and Jacobsen, S. E. 2007. The *Arabidopsis* LHP1 protein colocalizes with histone H3 Lys27 trimethylation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 869-871.
 62. Zhang, Y. C. and Chen, Y. Q. 2013. Long noncoding RNAs: new regulators in plant development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **436**, 111-114.
 63. Zhao, J., Sun, B. K., Erwin, J. A., Song, J. J. and Lee, J. T. 2008. Polycomb proteins targeted by a short repeat RNA to the mouse X chromosome. *Science* **322**, 750-756.
 64. Zhu, Q. H., Stephen, S., Taylor, J., Helliwell, C. A. and Wang, M. B. 2014. Long noncoding RNAs responsive to *Fusarium oxysporum* infection in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* **201**, 574-584.

초록 : 식물의 긴비암호화 RNA들의 생물학적 기능

김지혜 · 허재복*

(동아대학교 생명자원과학대학 분자유전공학과)

차세대 염기서열 분석기술의 발달로 대량의 전사수준의 단위체들이 발견되었는데, 이것들 중 대부분의 전사체들은 비암호화 RNA들이다. 이들 중 긴 비암호화 RNA (lncRNA)들은 200개 이상의 뉴클레오티드를 가지며 단백질로 번역이 되지 않는 기능적 RNA 분자들이다. 식물의 lncRNA들은 RNA Pol II, Pol III, Pol IV, Pol V에 의해 전사체가 만들어지고, 전사 후 이들 lncRNA들은 추가적인 splicing과 polyadenylation 과정이 일어난다. 식물의 lncRNA들은 그 발현수준이 매우 낮고, 조직 특이적으로 발현 되지만, 이들 lncRNA들은 외부자극에 의해 강한 발현이 유도된다. 환경스트레스를 포함한 각기 다른 외부자극에 의해 많은 식물 lncRNA들의 발현이 유도되었기 때문에 이들 lncRNA들은 식물의 다양한 생물학적 기능과 식물의 성장발달 과정에 있어 새로운 조절 인자로 고려되고 있다. 특히 후성유전학적인 유전자 억제, 크로마틴 변형, 타겟모방, 광형태형성, 단백질 재배치, 환경스트레스 반응, 병원균 감염등에 관련하여 기능을 한다. 또한 어떤 lncRNA들은 short RNA들의 전구체로 역할도 한다. 최근 식물에서 많은 lncRNA들이 분리 동정되었지만, 이들 lncRNA들의 생리학적인 기능에 대한 현재의 이해는 여전히 제한적이고, 이들의 세부적인 조절 메커니즘 연구는 지속적으로 이루어져야 할 것이다. 이 총설에서는 식물 lncRNA들의 생합성 및 조절 메커니즘과 현재까지 밝혀진 분자수준에서의 중요한 기능들을 요약 정리하였다.