

엽록체계놈분석에 의한 련향나무속(*Cercidiphyllum* Sieb. et Zucc.)식물들의 변이특성에 대한 연구

김원일, 박학성

련향나무속식물들은 동아시아지역의 특산종으로서 관상적가치가 높고 고급목재용과 화폐제조용으로 쓰일뿐아니라 고등식물계에서 분류위치상 비교적 원시적인 나무수종[1-3]인것으로 하여 학술적으로도 중요한 의의를 가진다.

우리는 엽록체계놈분석방법을 리용하여 련향나무속(*Cercidiphyllum* Sieb. et Zucc.) 2개종 식물들의 변이특성을 연구하였다.

재료와 방법

재료 련향나무속(*Cercidiphyllum* Sieb. et Zucc.)에 속하는 련향나무(*C. japonicum*)와 넓은련향나무(*C. magnificum*)를 리용하였다. 우리가 연구재료로 리용한 련향나무속 2개종에 6개체의 채집지점은 표 1과 같다.

표 1. 련향나무속식물들의 채집지점

| No. | 지역 | 채집지점 | 개체자호 |
|---|-------|-------------|------|
| 련향나무(<i>Cercidiphyllum japonicum</i>) | | | |
| 1 | 우리 나라 | 강원도 원산시 | WS1 |
| 2 | 중국 남부 | 절강성 림안시 천목산 | TMS |
| 3 | 중국 북부 | 섬서성 미현 태백산 | TBS |
| 4 | 일본 남부 | 혼슈 요시와 | JS |
| 5 | 일본 북부 | 혼슈 난타이 | JN |
| 넓은련향나무(<i>C. magnificum</i>) | | | |
| 6 | 일본 북부 | 혼슈 시라혼 | M |

엽록체계놈DNA분리와 배열결정 련향나무속 2개 종에 6개체의 어린 잎을 취하여 선행방법[3]으로 엽록체계놈DNA를 분리하고 SOLiD법으로 엽록체계놈염기배열을 결정하였다.

엽록체계놈구조분석 엽록체계놈염기배열자료에 기초하여 Geneious프로그램에 의한 시작코돈과 종결코돈의 교정, tRNAscan-SE프로그램(<http://lowel-ab.ucsc.edu/tRNAscan-SE/>)에 의한 tRNA배열의 확인, MEGA7프로그램에 의한 GC함량의 결정, Reputer프로그램에 의한 cpDNA계놈의 LSC, SSC, IRA, IRB의 위치와 길이결정, GeneBank형식의 배열화일을 Organellar Genome DRAW(<http://ogdraw.mpi-mpgolm.mpg.de/>)에 올려 서로 다른 기능을 가진 단백질암호화유전자와 각종 tRNA유전자, rRNA유전자와 기능이 아직 알려지지 않은 ORF 및 거짓유전자분석을 선행연구[3]에 기초하여 진행하였다.

연구에 리용한 프로그램들은 pyRAD, jModeltest 2.1.7, CIPRES, CLC, DOGMA, tRNAscan-SE, OrganellarGenomeDRAW, mVISTA, Geneious, DNASP5, MEGA7 등이다.

결과 및 논의

1)련향나무속식물의 엽록체계놈구조

먼저 련향나무속의 2개종 6개체에서 엽록체전계놈의 염기배열을 결정하고 CLC프로그램과 Geneious프로그램을 리용하여 엽록체구조분석을 진행하였다.

련향나무속식물엽록체계놈도 다른 식물들에서와 마찬가지로 4개 구역으로 구분되며 여기에는 큰 단복사구역(Large Single Copy: LSC)과 작은 단복사구역(Small Single Copy: SSC), 2개의 반대방향중복구역(Inverse Region A 혹은 B: IRA 혹은 IRB)이 있다. 련향나무속식물 엽록체계놈의 길이는 159.9kb이고 GC함량은 37.9%이다. 그중 LSC는 길이가 88.0kb, GC함량이 36.0%이고 SSC는 길이가 19.0kb, GC함량이 32.4%이며 IR는 길이가 26.4kb, GC함량이 43.1%이다.

련향나무속식물엽록체계놈에는 131개의 유전자가 있는데 그중 단백질암호화유전자가 79개, tRNA암호화유전자가 30개, rRNA암호화유전자가 4개, 중복유전자가 17개, 거짓유전자가 2개 있다. 중복유전자에는 6개의 단백질암호화유전자(*rps7*, *ndhB2*, *rpl2*, *rpl23*, *ycf2*, *ycf15*), 4개의 rRNA암호화유전자, 7개의 tRNA암호화유전자(*trnL-CAU*, *trnL-CAA*, *trnV-GAC*, *trnI-GAU*, *trnA-UGC*, *trnR-ACG*, *trnN-GUU*)가 있다.

거짓유전자는 IRB구역의 *ycf1*과 *ycf15*이다. 이밖에 4개의 ORF 즉 *orf42*, *orf56*, *orf168*, *ycf68*이 있다. 이 4개의 ORF의 기능은 아직 잘 알려지지 않았다.

LSC에는 83개의 유전자, SSC에는 12개의 유전자, IR에는 18개의 유전자가 있다.

인트론이 있는 유전자는 18개로서 여기에는 *ycf3*, *atpF*, *petB*, *ndhA*, *ndhBX2*, *rpoC1*, *rps12*, *rpl2X2*, *clpP*, *rpl16*, *trnL*, *UAA*, *trnV*, *UAC*, *trnI*, *GAUX2*, *trnA*, *UGCX2*가 있으며 그중 3개의 유전자 *clpP*, *ycf3*, *rps12*에는 2개의 인트론이 있다.

계놈배열중 단백질암호화배열, tRNA암호화배열, rRNA암호화배열과 비암호화배열은 각각 51.0, 1.8, 5.7, 41.3%이다. 련향나무속식물의 엽록체계놈배열에서 중복유전자는 *pbsD-pbsC*(83bp 중복), *ndhK-ndhC*(121bp 중복), *atpE-atpB*(4bp 중복)이다.

련향나무속식물의 엽록체계놈유전자들을 그 기능에 따라 분류하면 빛합성과 관련한 유전자, 전사 및 번역과 관련한 유전자, 그밖에 기타 유전자 등으로 이루어져있다. 빛합성관련유전자에는 Rubisco큰아단위, 빛계통I, 빛계통II, ATP합성효소, 세포색소b/f복합체, 세포색소c합성효소, NAD(P)H수소메기효소 등의 유전자들이 있다. 전사나 번역과 관련한 유전자에는 mRNA축합효소, 리보솜단백질의 큰아단위와 작은아단위, 번역개시인자, rRNA, tRNA 등의 유전자들이 있다. 이외에 성숙과 관련한 유전자(*matK*), 당질대사/막단백질대사와 관련한 유전자(*cemA*), 기름산합성과 관련한 유전자(*accD*), 단백질물작용분해와 관련한 유전자(*clpP*)가 있다. *ycf1*과 *ycf2*의 기능은 잘 알려지지 않았다.

2)련향나무속식물개체들에서 엽록체계놈의 염기조성

련향나무속 6개 식물개체의 엽록체계놈에 대한 염기조성분석결과는 표 2와 같다.

표 2에서 보는바와 같이 매 구역별로 염기조성은 각이하며 특히 IR구역에서 GC함량이 특별히 높았다.

표 2. 런향나무속식물엽록체계놈에 대한 염기조성분석결과

| 구역 | T함량/% | A함량/% | G함량/% | C함량/% | TA함량/% | GC함량/% |
|-----|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| LSC | 32.5 | 31.5 | 17.5 | 18.5 | 64.0 | 36.0 |
| SSC | 33.7 | 33.9 | 15.3 | 17.0 | 67.6 | 32.4 |
| IR | 28.3 | 28.6 | 22.3 | 20.8 | 56.9 | 43.1 |
| 전배렬 | 31.3 | 30.8 | 18.6 | 19.3 | 62.1 | 37.9 |

런향나무속 6개 식물개체의 엽록체계놈전배렬과 각 구역의 길이를 비교분석하였다.(표 3)

표 3. 런향나무속식물엽록체계놈전배렬과 각 구역의 길이

| 구역별 길이 | 개체자호 | | | | | |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | TBS | TMS | JS | JN | WS1 | M |
| 전배렬/bp | 159 866 | 159 871 | 159 865 | 159 897 | 159 897 | 159 899 |
| LSC/bp | 88 032 | 88 023 | 88 022 | 88 056 | 88 056 | 88 058 |
| SSC/bp | 18 980 | 18 994 | 18 989 | 18 973 | 18 973 | 18 973 |
| IR/bp | 26 427 | 26 427 | 26 427 | 26 434 | 26 434 | 26 434 |

표 3에서 보는바와 같이 TBS, TMS, JS의 엽록체계놈전배렬길이는 매우 유사하며 JN, WS, M의 전배렬길이 역시 거의 차이가 없다. 특히 IR구역의 길이에서 보면 앞의 3개체의 IR길이는 서로 일치하며 뒤의 3개체의 IR길이 역시 일치한다.

3) 런향나무속식물개체들에서 엽록체계놈배렬의 변이수

우리는 런향나무속 6개체의 계놈들사이 변이수를 보았다.(표 4)

표 4. 런향나무속식물 6개체의 계놈들사이 변이수(개)

| 개체자호 | TBS | TMS | JS | JN | WS1 | M |
|------|-----|-----|-----|----|-----|----|
| TBS | — | 5 | 5 | 50 | 49 | 48 |
| TMS | 23 | — | 0 | 51 | 50 | 49 |
| JS | 23 | 5 | — | 51 | 50 | 49 |
| JN | 175 | 177 | 177 | — | 1 | 2 |
| WS1 | 175 | 176 | 176 | 1 | — | 2 |
| M | 172 | 174 | 174 | 6 | 5 | — |

대각선의 아래부분은 엽록체계놈전배렬사이 변이수이고 대각선의 윗부분은 단백질암호화배렬사이 변이수이다.

표 4에서 보는바와 같이 TBS, TMS, JS와 JN, WS1, M사이에는 170개이상의 변이가 있다는것을 알수 있다. 또한 TBS와 TMS, JS사이에는 각각 23개의 변이가, TMS와 JS사이에는 5개의 변이가 있다. 그리고 JN와 WS1사이에는 오직 1개의 변이가 있으며 M과 JN, M과 WS1사이에는 각각 6, 5개의 변이가 있다.

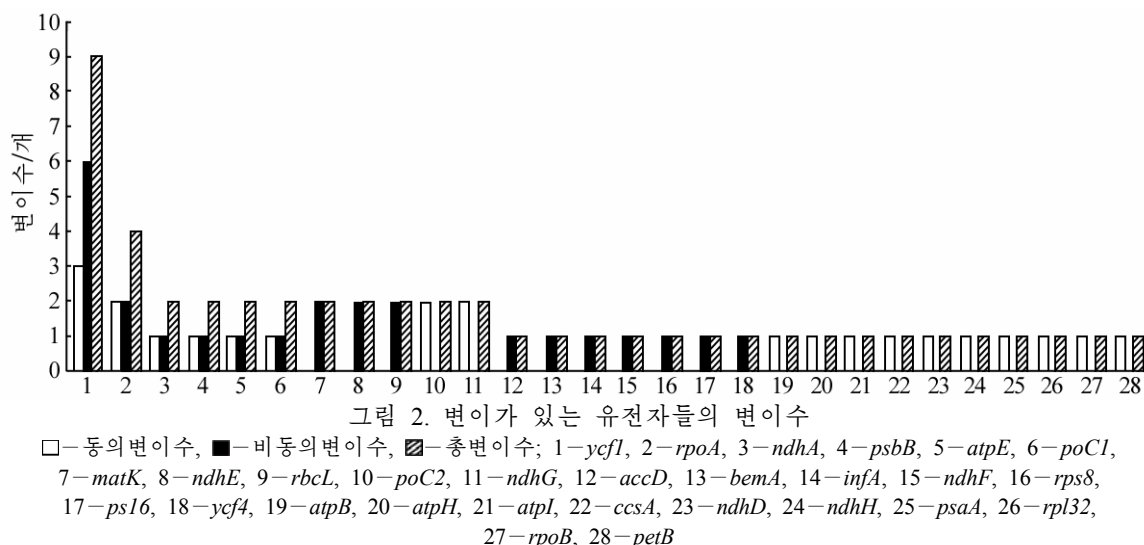
이로부터 중국 남부와 일본 남부의 런향나무개체사이에 변이수가 제일 적으며 일본 남부와 일본 북부의 런향나무개체사이에 변이수가 비교적 많다는것을 알수 있다. 또한 비록 서로 다른 종이지만 일본 북부의 런향나무개체와 넓은런향나무개체의 엽록체형이 매우 유사하였다. 우리 나라의 런향나무는 엽록체계놈구조가 일본 북부의 런향나무와 제일 유사하였다.

4) 런향나무속식물개체들의 엽록체계놈전배렬에 기초한 ML계통수작성

런향나무속식물엽록체형관계분석에서는 jModelTest v2.1.7프로그램을 리용하여 최적염기

Phylogenetic tree of the genus *Rhus* based on trnK and trnT-trnL sequences. The tree shows two main clades: one containing *Rhus* species (JS, TMS, TBS, M, WS1, JN, LF, PO, PC, SO, SS, ST) and another containing *Rhus* species (DYK01, DYK15, DYK31, R401, R402, R403, R404, EX01). Bootstrap values are shown at the nodes. Scale bars are 0.01 and 6.0. A scale bar for the *Rhus* clade is 0.01. A scale bar for the *Rhus* clade is 6.0. A scale bar for the *Rhus* clade is 0.01. A scale bar for the *Rhus* clade is 6.0.

일본 북부에 분포되어있는 련향나무에만 있는 *ycfl*은 추위견딜성과 관련한 유전자일수 있다고도 보고있다. 이 유전자는 우리 나라 중부지방에서 채집한 련향나무개체에도 있다.



련향나무속은 세계적으로 중생대 백악기에 출현하였으며 두쌍잎식물의 가장 오랜 원시적인 집단에 속하고 사멸되어가는 종이며 지난 지질시대에 유라시아대륙과 북아메리카 지역까지 분포되어있다가 신생대 제4기의 빙하기에 지구상의 거의 모든 지역에서 사멸되고 현재 동북아시아지역 특히 우리 나라(련향나무 1종)와 일본열도(련향나무와 넓은련향나무 2종), 중국(련향나무 1종)에만 야생종이 분포되어있다[4, 5]고 한다.

맺 는 말

련향나무속식물엽록체계놈의 길이는 159.9kb이고 GC함량은 37.9%이다. 그중 LSC는 길이가 88.0kb, GC함량이 36.0%이며 SSC는 길이가 19.0kb, GC함량이 32.4%이고 IR는 길이가 26.4kb, GC함량이 43.1%이다.

련향나무속식물엽록체계놈에는 131개의 유전자가 있는데 그중 단백질암호화유전자가 79개, tRNA암호화유전자가 30개, rRNA암호화유전자가 4개, 중복유전자가 17개, 거짓유전자가 2개 있다.

련향나무속식물의 엽록체형은 두가지 형으로 갈라진다. 일본 북부에 분포되어있는 련향나무와 넓은련향나무의 엽록체형은 일치하고 우리 나라 원산지방에서 채집한 련향나무도 이 엽록체형에 속한다. 한편 일본 남부에 분포되어있는 련향나무와 중국 북부와 남부에 있는 련향나무의 엽록체형은 일치한다.

참 고 문 헌

- [1] 고태수; 조선원림식물지(수목편), 공업종합출판사, 74~75, 주체87(1998).
- [2] X. S. Qi et al.; New Phytologist, 196, 617, 2012.
- [3] W. P. Dong et al.; PLoS One, 8, 77965, 2013.
- [4] R. C. Petter et al.; Curtis's Botanical Magazine, 30, 3, 177, 2013.
- [5] 周浙昆 等; 植物分类与资源学报, 27, 449, 2005.

Study on the Variation Characteristics of *Cercidiphyllum* Sieb. et Zucc. by using Chloroplast Genome Analysis

Kim Won Il, Pak Hak Song

We analyzed the chloroplast genome of *Cercidiphyllum* and reported that the chloroplast genome of *C. japonicum* distributed in the north of Japan is replaced by chloroplast genome of *C. magnificum* through introgression, which could allow *C. japonicum* in the north of Japan to adapt the cold environment. *ycf1* maybe the essential gene in the evolution history of *C. japonicum* in the north of Japan.

Key words: phylogenetics, introgression, *Cercidiphyllum*, chloroplast genome