

Development and Biogenesis of Peroxisome in Oil-seed Plants

Dae-Jae Kim*

Department of Biology Education, College of Education, Chungbuk National University, 1 Chungdae-ro, Seowon-gu, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea

Received July 3, 2023 / Revised July 30, 2023 / Accepted August 3, 2023

Peroxisomes, known as microbodies, are a class of morphologically similar subcellular organelles commonly found in most eukaryotic cells. They are 0.2~1.8 μm in diameter and are bound by a single membrane. The matrix is usually finely granular, but occasionally crystalline or fibrillary inclusions are observed. They characteristically contain hydrogen peroxide (H_2O_2) generating oxidases and contain the enzyme catalase, thus confining the metabolism of the poisonous H_2O_2 within these organelles. Therefore, the eukaryotic organelles are greatly dynamic both in morphology and metabolism. Plant peroxisomes, in particular, are associated with numerous metabolic processes, including β -oxidation, the glyoxylate cycle and photorespiration. Furthermore, plant peroxisomes are involved in development, along with responses to stresses such as the synthesis of important phytohormones of auxins, salicylic acid and jasmonic acids. In the past few decades substantial progress has been made in the study of peroxisome biogenesis in eukaryotic organisms, mainly in animals and yeasts. Advancement of sophisticated techniques in molecular biology and widening of the range of genomic applications have led to the identification of most peroxisomal genes and proteins (peroxins, PEXs). Furthermore, recent applications of proteome study have produced fundamental information on biogenesis in plant peroxisomes, together with improving our understanding of peroxisomal protein targeting, regulation, and degradation. Nonetheless, despite this progress in peroxisome development, much remains to be explained about how peroxisomes originate from the endoplasmic reticulum (ER), then assemble and divide. Peroxisomes perform dynamic roles in many phases of plant development, and in this review, we focus on the latest progress in furthering our understanding of plant peroxisome functions, biogenesis, and dynamics.

Key words : Glyoxysome, microbody, oil-seed plants, peroxin, peroxisome

서론

퍼옥시좀(peroxisome)에 대한 생물학적 개념이 정의된 후[19, 20] 그에 관한 여러 연구 보고가 있었다[6, 8, 14, 19-21, 45, 46, 63, 101]. 또한 지난 반세기에 걸쳐 퍼옥시좀에 관한 커다란 과학적 연구의 진전이 있었으며, 이를 기반으로 하여 고등식물의 관점에서 그 결과들을 검토하고 종합적으로 논의해 보고자 한다.

퍼옥시좀(일반적으로 microbody 또는 미소체)은 단일 지질막으로 둘러싸여 있으며 DNA와 같은 유전물질이 없는 세포 내 소기관의 하나이다. 따라서 모든 퍼옥시좀 단백질은 핵의 유전자로부터 전사되어 세포질에서 합성된

후 이 세포 소기관으로 수송된다. 식물의 퍼옥시좀은 300여 종류의 단백질을 포함하며, 그 중 70여개가 지방산의 산화와 관련이 있다. 대략 20여 종류의 단백질만이 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 대사에 관여하고 10여 가지 효소만이 식물에서는 광호흡에 참여한다. 퍼옥시좀의 대사 기능 및 생물 발생은 여러 연구 그룹에 의해 검토되었다[1, 45, 52, 99]. 식물에서 미소체는 퍼옥시좀, 글라이옥시좀(glyoxysome) 및 게론토솜(gerontosome) 등 세포의 발달 상태에 따라 3개 또는 4개의 범주로 세분화되고 다른 이름으로 불리기도 한다[46, 106]. 첫째, 식물에서 잎의 퍼옥시좀은 미토콘드리아와 협력하여 엽록체에서 광호흡의 부산물로 생성된 포스포글리콜레이트(phosphoglycolate)를 회수한다. 둘째, 글라이옥시좀은 글라이옥실산 회로 및 지방산 β -산화 과정을 포함하는 특수한 퍼옥시좀으로써 저장된 지방의 이동과 포도당 신생성을 위한 전구체로의 전환에 관여한다. 즉, 종자의 발아시 유식물의 성장을 위한 탄수화물 생합성의 중추적인 경로를 가진다. 셋째, 유레이드(ureide) 대사를 위한 퍼옥시좀은 유기물의 조합에 따른 질소 공급원으로, 특히 유레이드를

*Corresponding author

Tel : +82-43-261-3260, Fax : +82-43-260-3361

E-mail : djkim@chungbuk.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.

수송하는 대두와 같은 질소 고정에 관여하는 콩과 식물의 뿌리 혹에서 발견된다. 감염되지 않은 뿌리 혹 세포의 퍼옥시좀은 특히 두드러지며 주요 단백질로는 효소 uricase를 포함한다[9]. 넷째, 제논토좀은 녹색 조직의 노쇠화 동안 발생하는 특이한 유형의 다기능성 미소체이다[106]. 또한, 비특이적인 퍼옥시좀은 뿌리와 그 외 다른 조직에서 발견되지만 그 기능은 여전히 불분명하다. 이러한 분류는 미소체의 기능을 바탕으로 하지만 새로운 효소의 합성 및 수송에 의해 서로 다른 퍼옥시좀 유형으로 상호 전환될 수 있음을 의미한다. 퍼옥시좀 자체에는 유전물질로써 DNA가 없기 때문에 유전적 통제는 핵에 절대적으로 의존하고 있지만 역동적으로 다양한 수준에서 내부 단백질의 구성이 변화될 수 있다. 카탈레이스(catalase) 발현의 조절이 좋은 사례이다. 세포질에서 퍼옥시좀 단백질의 합성이 이루어지면 그 단백질들은 목표 세포 소기관에 정확하게 표적화(peroxisomal targeting) 되어, 매트릭스(matrix)로 수송 및 조립되거나, 막에 삽입되어야 한다. 퍼옥시좀의 특화된 기능은 각 유형의 세포 기관에 축적되는 고유한 효소 구성에 의해 제어된다. 따라서, 고등식물 퍼옥시좀은 발달 단계의 세포 또는 조직의 특정 요건에 반응하는 기능적으로 매우 유연한 세포 내 소기관에 하나이다. 이러한 과정을 제어하는 기작이 이해되기 시작했지만 퍼옥시좀의 생물 발생에 관한 여러 의문들은 아직도 남아 있다. 현재 퍼옥시좀의 발생에 관한 여러 가능한 모델이 제시되어 있다[1, 45]. 그 세부적인 발생 모델은 이 총설의 뒷부분에서 논의하고자 한다. 미소체의 발생에 다양성은 존재하지만 한편에서는 통합된 개념으로서 모든 미소체들을 'peroxisome' 하나로 표기한다.

본 론

지방 저장 종자식물에서 글라이옥시좀의 발달: 발아와 노쇠화

글라이옥시좀은 일반적으로 지방 저장 종자식물들의 떡잎 또는 배유에서 주로 발견되지만 일부의 식물에서는 발달 중 또는 성숙한 종자에 존재한다는 증거도 있다[70]. *Brassica*, 피마자 콩, 면화, 오이 및 해바라기 등 많은 연구에서 효소 활성의 출현, 단백질 및 mRNA의 축적이 확인된 바 있다[3, 5, 10, 12, 38, 53, 55, 68, 84, 86, 95, 102, 108]. 이소시트르산 분해효소(isocitrate lyase, ICL), 말산 합성효소(malate synthase, MS) 및 글라이옥시좀형 말산 탈수소효소(glyoxysomal malate dehydrogenase, gMDH)와 같은 효소들의 활성은 건조한 종자에서 매우 낮고 탐지가 불가능한 수준에 머물지만, 종자가 수분을 흡수하고 발아가 개시되면 폭발적으로 증가한다. 이 효소들의 최대 활성은 수분의 흡수가 시작되고 발아 3-4일 후에 나타나며, 이는 저장 지방 유동과 포도당 신생(gluconeogenesis)의 최대 속도와 밀접한 상관 관계가 있다. 이후 유식물체가 광합성

을 시작하게 되면 그 효소들의 활성이 급격히 감소한다. 암소에서 발아 시 효소들의 활성은 빛이 있는 곳에서 보다는 다소 오래 지속된다. 관련된 특정 단백질과 mRNA의 출현은 해당 효소 활성의 출현을 그대로 반영한다. 따라서 이러한 효소의 합성은 관련 RNA의 가용성에 의해 조절된다. 주로 전사 수준의 제어를 통해서 조절이 이루어진다[12]. *ICL*과 *MS* 유전자의 클로닝 및 이들 유전자의 프로모터 영역을 이용한 형질전환 담배 식물에서 보여준 유전자 발현 양상은 이 유전자들의 조절에 대한 상세한 분석을 가능하게 하는 방향성을 제시하였다[12, 13, 37, 38, 85, 89, 112].

빛의 조명하에서 상배축형(epigeous) 식물종의 떡잎은 녹색으로 전환되며 성장하여 초기 유식물의 첫 번째 광합성 기관이 된다. 그러나 일부 보고서에 따르면 글라이옥실산 회로 효소 활성은 어린 토마토 잎을 확장하지만 성숙한 잎에서는 그렇지 않은 것으로 나타났다[76]. 유식물의 발아가 완성됨에 따라 글라이옥실산 회로 효소는 급격히 감소하고, 완전한 녹색 떡잎에서는 감지할 수 없는 수준이 된다. 반면에 글리콜산 산화효소(glycolate oxidase, GO), 히드록시 피루브산 환원효소(hydroxypyruvate reductase, HPR) 및 세린: 글라이옥실산 아미노 전이효소(serine : glyoxylate amino transferase, SGAT)와 같은 글리콜산 대사(광호흡)의 특징적 효소들의 활성은 검출할 수 없는 수준에서 증가하기 시작하여 녹색 잎 퍼옥시좀의 주요 구성 요소가 된다[10]. 효소 활성과 상응하는 mRNA는 종자의 침윤 후 약 2-3일 지나 나타나며 이들의 축적은 빛에 의존성이 강하다[39, 44]. *HPR* 유전자 발현은 적색광에 의해 유도되고, 발현 유도는 피토크롬의 관여에 따라서 원적외선에 의해 역전된다. cDNA 및 *HPR* 유전자(*HPR-A*과 *HPR-B*)가 성공적으로 클로닝 되어 서열분석이 완성된 바 있다[91]. *Cis-acting* 요소에 대한 프로모터 분석이 형질전환 담배 식물에서 수행되어 5' 서열의 1kb 이상이 형질전환 식물에서 충실한 발현을 지시할 수 있었으며, 이 영역 내에는 다른 광 조절 유전자에서 발견되는 "I box" 및 "G box" 모티프와 유사한 서열이 위치한다[41, 66, 93]. 카탈레이스는 글라이옥시좀과 잎 퍼옥시좀 모두에 존재하지만 후자에서는 활성이 낮다. 효소는 전체 퍼옥시좀 단백질의 약 10~25%를 차지하며 매우 높은 활성과 촉매 회전율을 가지고 있다. 카탈레이스 생합성의 조절은 전사 후 과정이 중요한 역할을 하는 등 다소 복잡하다. 카탈레이스는 사랑채로써 다양한 비율로 상이한 소단위체의 조립을 통해 많은 동질효소가 생성될 수 있다[25, 73]. 소단위체들은 목화에서 발견된 것과 같이 다른 유전자의 산물일 수도 있고[74, 75]. 또는 호박에서와 같이 단일 전구체의 차등 단백질 분해 처리에 의해 생성될 수도 있다[110, 111] 또는 해바라기에서와 같이 2개 소단위체의 조합의 결과 일 수도 있다[25]. 목화의 카탈레이스 유전자 S1과

S2는 발아 후 성장 전반에 걸쳐 동등한 수준에서 전사된다. 그러나 각각의 상대적 mRNA 수준은 크게 다르다. S1 mRNA는 초기 단계에서 우세하여 대부분 S1 소단위체를 포함하고 더욱 활동적인 동질효소를 형성한다. 이후에 S1 mRNA의 상대적 발현양은 감소하는 반면, S2 mRNA의 상대적 발현 수준은 증가하여 동질효소 유형의 전환이 일어난다[74]. 호박의 글라이옥시솜에서는 59 kDa에 해당하는 전구체 카탈레이스 단백질의 분해로 55 kDa 활성형 카탈레이스 소단위체를 생성한다. 활성형 55 kDa 소단위체로 구성된 동질사량체(homotetramer) 카탈레이스는 절단 처리(proteolytic cleavage)되지 않은 59 kDa 소단위체로 구성된 잎의 퍼옥시솜 카탈레이스 보다 10배 이상 높은 효소 활성을 나타낸다[110, 111]. 그러나 절단 처리되지 않은 사량체 카탈레이스가 퍼옥시솜에서도 발견되기 때문에 폴리펩타이드의 절단 처리가 퍼옥시솜 수송에는 필요하지 않다. 옥수수에서 3개의 카탈레이스 유전자(CAT1, CAT2 및 CAT3)가 확인되었고, 이들의 발달 및 조직 특이적 발현이 매우 특징적이었다[87, 92]. CAT1은 옥수수 이삭이 성숙할 때 발현되는 반면, CAT2는 배아에서 글라이옥시솜에 특화된 단백질을 암호화한다. CAT3은 잎에서 활성화되고 일주기 리듬에 따라 발현되어 나타난다.

성숙기에서 노쇠화로 발달은 다양한 내부 신호 및 외적 환경 요인에 의해 조절되는 유전자 발현의 통제 아래에 있다. 앞서 글라이옥실산 회로는 유식물의 광합성 능력이 확립될 때까지 발아 전후 짧은 기간 동안 작동하는 것으로 알려져 왔다. 그러나 떡잎과 잎의 노쇠화 동안에도 잎의 퍼옥시솜에서 글라이옥시솜(또는 제론토솜)으로의 역전이에 대한 여러 증거가 확인되었다[77, 81]. 녹색 잎과 녹색의 떡잎에는 검출 가능한 수준의 글라이옥실산 회로의 주요 효소가 포함되어 있지 않다. 그러나 자연발달에 따른 노쇠화가 일어나는 기관이나 인위적으로 암소에 유지되는 절단된 잎 또는 떡잎과 같은 기관에서도 이러한 활동과 해당 mRNA가 다시 나타난다[55]. 이것은 단자엽과 쌍자엽 모두에서 노쇠화 동안 일반적인 현상으로 보인다[16, 17, 36, 42]. 글라이옥실산 회로 효소는 노쇠화 꽃잎의 퍼옥시솜에서도 발견된다[18, 54]. 또한, 이러한 역전이를 연구하기 위해 적용된 면역반응 이중 표지법에 의한 연구에서 녹색 중 글라이옥시솜에서 잎 퍼옥시솜으로의 전환에 관해서는, 양쪽 유형의 퍼옥시솜 특징적 효소가 노쇠화 동안 동일한 세포 소기관 내에서 발생하는 것을 확인하였다[77]. 노쇠화 조직에서 이러한 역전이는 세포 소기관 DNA 및 RNA 분해로부터 얻어지는 퓨린 뉴클레오티드(purine nucleotides)와 세포 내막의 붕괴에 따라 방출되는 인지질의 회수를 통한 재활용을 가능하게 할 것이다[42]. 이러한 관찰에 따르면, 노쇠화는 또한 포도당 신생과 관련된 지방산의 이용 및 대사를 포함한다고 추정할 수 있다. 식물의 잎에서 얻어지는 가장 풍부한 아

실 잔기(acyl residues)의 최대 공급원은 엽록체의 당지질이다. 식물의 노쇠화 과정에서 미소체의 효소 조성을 결정하는 것으로 보이는 요소들으로써 광호흡 및 글라이옥시솜 기능 외에도 핵산 분해시 생성되는 퓨린(purines)의 이화작용은 추가적인 주요 기능으로 볼 수 있다[87]. 따라서 퓨린 대사효소의 미소체내 생성과 수송이라는 측면에서 노쇠화 된 잎에서의 연구와 더 많은 조사가 필요하다고 판단된다.

글라이옥시솜 - 퍼옥시솜의 상호 전이

세포내 소기관의 생물 발생은 발달에 따라 조절이 이루어진다. 글라이옥시솜은 주로 발달 중인 종자와 유식물에 한 제한적으로 존재하는 반면 다른 퍼옥시솜은 성숙한 식물의 여러 기관에서 광범위하게 발견된다[46, 101]. 발아 초기 종속영양에서 독립영양으로 전환하는 동안 퍼옥시솜의 기능적 변화는 기존 세포내 소기관 집단의 파괴와 새로운 집단의 형성 또는 기존 세포내 소기관의 새로운 기능으로의 전환에 따른 변화에 의한 것일 수 있다[6]. 그동안의 많은 연구결과들이 후자에 가깝다는 것을 보여준다. 이것은 최초로 떡잎의 초박형 절편을 이용한 이중 면역 표지법(immunogold double labelling)에 의해 전이 단계(글라이옥시솜과 퍼옥시솜 두 종류의 미소체 효소가 모두 검출될 수 있는 단계)에서 설득력 있게 입증되었다. 글라이옥시솜 특이적 효소 및 잎-퍼옥시솜 특이적 효소 모두 동일한 세포 기관 내에 존재하는 것이 확인되었다[90, 98]. 세포내 소기관의 전이 기간 동안 ICL 및 MS와 같은 글라이옥시솜 특이적 효소는 분해되는 반면, 동시에 미소체 전이 동안 잎의 퍼옥시솜으로 운반되는 GO와 HPR과 같은 녹색 잎 특이적 퍼옥시솜 효소는 새로이 합성된다. 잎 퍼옥시솜으로부터 글라이옥시솜(또는 제론토솜) 유사 미소체로의 역전이는 앞서 언급 한 바와 같이 노쇠화 동안 떡잎에서 발생할 수 있다. 따라서 "이중" 전환은 박과식물들의 떡잎이 발달하는 동안 발생할 수 있다. 첫 번째는 씨앗의 발아가 완성된 후 발아 직후 떡잎의 녹색 동안 일어나는 글라이옥시솜에서 잎 퍼옥시솜으로의 전이와 두 번째는 녹색되어 성장한 후 노쇠화기에 접어든 떡잎에서 일어나는 녹색 잎 퍼옥시솜에서 글라이옥시솜 유사성 미소체인 gerontosome으로 노쇠화기 동안 발생할 것이다.

퍼옥시솜으로 단백질 수송과 전이

퍼옥시솜 매질 내부로의 단백질 수송은 동물 및 하등 진핵생물에서 주로 연구되었으며, 퍼옥시솜 단백질은 세포질의 유리 폴리솜에서 합성되고 번역 후 수송된다[22]. 이것은 식물에서 퍼옥시솜의 경우에도 마찬가지이다[56]. 수송을 위한 표적화 신호(peroxisomal targeting signals, PTSs)는 일부 단백질의 아미노 말단(amino-terminal PTS2)과 또다른 단백질의 카복시 말단(carboxy-terminal PTS1)

에서 확인되었다. 일부 단백질에는 내부 또는 다중 펌프 시즘 수송 표적화 신호가 있는 것으로 보인다. 점차 일반화 가능한 원칙이 확인되고 있으며 펌프시즘 단백질 표적 수송에 관한 더 많은 정보의 축적으로 보다 명확하게 이해될 것이다.

카르복시 말단, 아미노 말단 신호 및 내부 신호

두 가지의 펌프시즘 표적화 신호로 PTS가 확인되었다. 그 하나는 대부분의 펌프시즘 단백질이 가지고 있는 Class-1의 PTS1 공통 서열로 serine-lysine-leucine(SKL)이며, 카르복시 말단(C-terminal)에 보존된 변이체로 구성된 다. 연구를 통해 밝혀진 변이를 포함한 공통 서열은 $-(S/A/C)-[R/H/K]-L-(COOH)-$ 이다[31-34, 71]. 이 신호서열이 단백질의 카르복시 말단에 모두 존재하는 경우 PTS로 필요충분한 조건이 된다. 많은 펌프시즘 관련 단백질들은 위 세개의 아미노산으로 구성된 PTS로 끝난다. PTS1은 폭넓게 존재하여 특히 SKL로 끝나는 마지막 9개 아미노산 서열은 다양한 생물 종에서 펌프시즘 단백질의 PTS1으로 불린다[33, 35]. 하등의 진핵생물에서 PTS1은 얼마간 퇴화한 것으로 보인다. PTS1은 PEX5 (peroxisome biogenesis 5 유전자, PEX5 암호화 단백질인 peroxin 5)를 인식하여 펌프시즘 내부로 수송이 이루어진다[35]. AKI, AQI 및 GKI 서열들은 모두 칸디다(*Candida tropicalis*)에서 PTS1로 기능할 수 있었다. 그러나 AKI만이 효모(*S. cerevisiae*)에서 PTS1로 작용했지만, 포유류에서는 C-말단 서열 SKI는 PTS1로 기능을 하지 못하였다[2, 32]. 실험적으로 SKL 서열 자체는 루시페레이스(luciferase)의 정확한 수송에 필수적이었으나 효모의 펌프시즘에 대한 디하이드로폴레이트 환원효소(dihydroxy folate reductase, DHFR)를 표적화하기에는 충분하지 않았다[24]. 유사하게 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼레이스(chloramphenicol acetyl transferase)에 부착된 AKI는 이 리포터를 효모의 펌프시즘에 표적수송하는데 실패하였지만, 또 다른 다기능성 효소를 칸디다균과 효모 펌프시즘 모두에 표적화 하는데 필수적이었다[2]. 일부 아미노산 신호가 필수 요소이지만 충분하지 않다는 것은 그 신호가 올바르게 구성되어야 할 필요성을 의미한다. 간접 서열의 삽입에 의한 PTS 서열의 돌연변이는 카르복시 말단에 SKL신호가 온전함에 불구하고 펌프시즘으로의 표적 수송에 실패한 경우에서 볼 수 있다. 세포 내 소기관으로 단백질 수송 표적화 신호의 요구성은 미토콘드리아와 같은 다른 시스템에서도 이미 확인된 바 있다[31, 47].

식물에서 PTS1의 기능을 확인한 최초의 실험은 GO (RAVARL-COOH)의 마지막 6개 아미노산을 적용하여 단백질 표적 수송에 사용된 β -글루쿠로니데이스(β -glucuronidase)를 형질전환 담배의 펌프시즘으로 정확히 수송할 수 있음을 보여주는 것이었다[107]. 다만 융합 단백질의

국소화는 세포 분획에 의해 이루어져서 표적화의 효율성을 판단하기 어려웠다. 융합 단백질의 대부분은 세포질에 존재하는 것처럼 보였지만 펌프시즘은 매우 약하여 손상된 세포 기관으로부터 누출될 수 있음을 추정해 볼 수도 있기 때문이다. 다른 펌프시즘 효소의 누출을 관찰할 수 있는 대조군과 융합 단백질의 물리적 특성이 알려지지 않았기 때문에 일반화에는 제한적인 수밖에 없다. 따라서 천연 단백질과 유사하게 행동할 것이라 확신하기는 어렵다. 또한 마지막 6개의 아미노산이 β -글루쿠로니데이스를 표적 신호로 작용하기에 충분한 것으로 나타났지만 이들이 GO의 올바른 표적화에 필요한지 여부는 확립되지 않았다. 다른 연구 보고에서도 2가지 주요 글라이옥실산 회로의 효소인 MS 및 ICL C-말단에 펌프시즘 표적 수송 신호가 있음을 확인하였다[78]. 또 하나 흥미로운것은 SKL 함유 펌프시즘 펩타이드가 피마자 콩의 글라이옥시즘 막에 매우 특이적이고 높은 친화력으로 결합할 수 있다는 발견이다[109].

모든 펌프시즘 단백질이 카르복시 말단에 SKL과 관련된 PTS1을 포함하는 것은 아니다. 또한 SKL이 펩타이드 내부 위치에서 작용할 수 있다는 명확한 증거는 아직 없다. 펌프시즘형 티올레이스(peroxisomal thiolase)가 전구체로 합성되고 펌프시즘 내부로 도입 시 제거되는 아미노 말단 서열(amino terminal presequence)을 갖는다는 점에서 오랫동안 특이한 단백질로 인식되어 왔다. 대부분의 펌프시즘 단백질은 검출 가능한 처리 과정을 거치지 않으며 또한 티올레이스는 C-말단 SKL 트리펩타이드 신호가 없다[4]. 동물의 연구에서 쥐의 펌프시즘형 티올레이스 펩타이드의 아미노 말단 11개 아미노산이 펌프시즘에 표적 신호 서열임이 처음으로 확인되었다[97]. 나아가 티올레이스 표적 신호를 Class-2 PTS족, PTS2로 분류하였다. PTS2를 가지는 단백질은 PEX7을 인식하여 펌프시즘으로 유입된다[35]. 식물 펌프시즘 티올레이스 또한 전구체로도 합성되며, 여러 식물에서도 티올레이스의 아미노 말단이 PTS2로 작용한다[82]. 전구체로 합성되고 아미노 말단 PTS2를 갖는 또 다른 단백질은 수박과 오이에서 확인된 글라이옥시즘형 말산탈수소 효소(gMDH)이다[30, 55]. 티올레이스와 gMDH 모두 PTS2표적 서열(정확히 42 aa의 아미노 말단 presequences)에서 상동성을 공유하는 것은 매우 흥미롭다.

PTS1 또는 PTS2의 존재가 명확하지 않은 펌프시즘 단백질에서는 내부 신호 서열의 존재 유무에 관심이 모아져 *Candida tropicalis*에서 acyl CoA oxidase (AOX)의 수송에 관한 연구 보고가 있었다[94]. 쥐의 간 AOX와 달리 *Candida* 효소는 SKL로 끝나지 않는다. 앞서 언급했듯이 *Candida*는 PTS1이 약간 다른 것으로 보이며 또한 C-말단은 여기서 그 역할을 하지 못했다. 아미노 말단(aa 1~112)과 내부 영역(aa 309~464)으로부터 분리된 2개의 영역은 DHFR을

퍼옥시좀으로 표적화 할 수 있었다. 효모의 카탈레이스는 또한 여러 유형의 서열을 가지고 있다. 마지막 6개 아미노산 SSNSKF는 퍼옥시좀에 대한 리포터 단백질을 표적 신호로 사용하지만, 말단 SKF 서열이 없어도 절단된 카탈레이스를 퍼옥시좀으로 유입될 수 있도록 한다. 결실 및 융합 실험은 아미노산 126과 143 사이의 영역이 표적화에 중요함을 확인하였으나, 이 신호는 140개의 아미노산으로 구성된 카탈레이스의 모든 융합 단백질에 대하여 수용 능력이 있는 것은 아니기 때문에 퍼옥시좀 단백질 수송에 대한 내부 신호 서열로 확정되지는 못하였다[57].

퍼옥시좀 단백질의 수송 기작

수송 에너지 요구의 필요성

최초의 에너지 요구성에 관한 연구는 쥐의 간과 해바라기에서 이루어져 퍼옥시좀 단백질의 수송에 ATP 의존적임을 보고하면서 시작되었다[7, 48]. 식물 퍼옥시좀 막이 다른 종의 퍼옥시좀에서 발견되는 것과 유사한 통로 또는 ATPase를 포함하는지 여부는 분명하지 않았다. 이제 ATP가 퍼옥시좀 단백질의 수송에 어떻게 사용되는지, 그리고 그것이 세포 기관 내부 또는 외부에서 필요한지 여부는 명확해졌다[80]. 펩타이드 서열에서 ABC 카세트 수송 단백질과 높은 유사성을 나타내는 퍼옥시좀 막 단백질(peroxisomal membrane protein, PMP)인 PMP 70이 수송용 ATPase임을 확인되었다[50, 51]. PMP 70은 포유류의 퍼옥시좀 막에서만 발견되었으나 효모에서도 퍼옥시좀 구성에 필수적인 유전자인 *PAS1* (peroxisomal assembly 1)이 매질에 존재하는 ATPase를 암호화하는 것으로 확인되었고, 퍼옥시좀 조립 과정에서 그 기능이 일부 확인되었다[26, 27]. 지난 20여 년 동안 게놈 정보의 축적과 서열 분석 기법의 발전을 바탕으로 퍼옥시좀 발생과 관련된 단백질로 대표되는 peroxin PEX1과 PEX6가 퍼옥시좀 단백질의 수송에 ATP가 요구됨을 명확하게 규명하였다[80].

수송 중 단백질 형태와 단백질의 조립과 수용체

대부분의 단백질은 생체적 막을 통과하기 위해 느슨한 접힘 형태로 존재한다. C-말단 SKL을 함유하는 펩티드에 접합된 인간 혈청 알부민의 미세주입시 펩타이드 사슬의 풀림(unfolding)을 통해 퍼옥시좀으로 수송될 수 있었다[105]. 퍼옥시좀이 결핍된 Zellweger syndrome)을 앓고 있는 환자의 섬유 아세포에서 활성 카탈레이스가 세포질에 조립될 수 있었다. 즉, 서로 다른 상보성 계열의 2가지 섬유 아세포가 융합되면 퍼옥시좀이 구성되었고 카탈레이스가 그 안에 재포장되는 것이 가능해졌다. 이 과정은 카탈레이스 억제제인 아미노 트리아졸에 의해 제한되었다. 대조군 실험에서 이 효과가 카탈레이스에 특이적임을 나타내어 아미노 트리아졸이 단백질 풀림을 억제함으로써 카탈레이스 수송을 제한할 수 있음을 보여

준 것이다[69]. 많은 퍼옥시좀 단백질은 보조 인자 또는 보결단을 가지고 있으며 많은 경우 다량체인 올리고머이다. 퍼옥시좀 내부의 조립 공정에 대한 지식은 아직도 많지 않다.

퍼옥시좀의 발생과 PEX

진화론적 기원 - 내재공생의 잔유물인가

퍼옥시좀의 진화적 기원은 오랫동안 논의되어 왔다[8, 21, 59, 61, 96]. 퍼옥시좀 또한 내재공생(endosymbiosis)의 잔유물인가? 그 기원은 진핵생물 내막 체계의 다른 소기관들과 유사한가? 그러나 이들이 엽록체와 미토콘드리아와는 달리 내재공생 기원으로 받아들이기 어려운 것은 퍼옥시좀이 단일막 구조이며 DNA가 없다는 것이다. 그러나, 퍼옥시좀은 막의 유동 및 막 융합 과정에 의해 유지되는 다른 내막 시스템의 구획과는 분명 다르다. 진핵세포의 소포체에서 원형질막을 가로질러 또는 리소좀으로 직접 운반되는 단백질의 특수한 경우를 제외하고, 진핵세포의 다른 단일 막 중 어느 것도 단백질의 전위에 능숙하지 않은 반면, 퍼옥시좀은 모든 단백질이 아니더라도 대부분의 단백질을 이러한 방식으로 획득한다. 지금까지 연구된 모든 퍼옥시좀 효소는 유리 폴리솜에서 합성되고, 단백질을 내막 시스템으로 유도하는 것과는 명백하게 다른 표적 신호를 가지며, 번역 후 퍼옥시좀으로 운반될 수 있다[15]. 내재공생의 기원의 가능성은 핵심 대사 경로로 지방산의 β -산화와 H_2O_2 대사 및 글리옥실산 회로가 대부분의 퍼옥시좀에 존재한다는 것으로 설명할 수 있다. 그러나 효소의 2차 손실과 획득에 대한 종간의 많은 차이를 설명할 수 있어야 한다. 원조 퍼옥시좀이 내재공생 일지라도, 퍼옥시좀 진화 과정에서 단백질의 2차 손실 및 획득의 비교를 위한 단백질을 선정하는데 어려움이 있다. 퍼옥시좀 β -산화 시스템은 모든 퍼옥시좀이 이 경로를 보유하기 때문에 공통 조상의 특성을 제시하는 좋은 선택일 수 있다[8]. 퍼옥시좀의 β -산화효소는 퍼옥시좀과 원핵생물이 다 기능 폴리펩티드를 갖는 반면 미토콘드리아는 각 활성에 대해 별도의 폴리펩티드를 갖는다는 점에서 미토콘드리아 효소보다 원핵생물의 효소와 더욱 유사하다[61]. 그러나 이것이 결정적이라는 증거가 여전히 부족하다.

퍼옥시좀의 형성, 성장 및 분열

초기에 퍼옥시좀은 출아에 의해 ER 막에서 파생된 것으로 생각되었다. 이것은 포유류 및 효모의 퍼옥시좀 연구에 의해 출아증식설은 부정되었다[63]. 동물과 효모에서 퍼옥시좀이 성장하고 분열하는 것은 자가 영속적인 세포 소기관으로써 퍼옥시좀의 구성은 독립적인 것으로 보인다. 포도당에서 성장하는 *Candida boidinii* 세포에서는 매우 작은 퍼옥시좀이 검출될 수 있었으며, 이것을 메탄올 환경으로 옮기면 퍼옥시좀은 분열하고 성장한다. 특히

내재성 막단백질의 유도에 따라 매질 효소의 축적이 일어났다[104]. 저지혈증 치료제로 쥐를 처치하거나 간의 부분 절제는 간에서 퍼옥시좀의 증식을 유도하였다. 나아가 분열하는 퍼옥시좀의 전자 현미경 사진도 제시되었으며, 새로이 합성된 막 단백질의 통합 부위처럼 보이는 구조가 확인되었다[28]. 새로이 합성된 단백질은 쥐의 간에서 작은 퍼옥시좀에 우선적으로 통합되는 것이 확인되었다[65].

발달 중에 식물 퍼옥시좀의 부유 밀도가 증가한다는 보고가 있고, 이는 더 작은 세포 기관의 확대를 시사하였다[58]. 또한 효모의 일종인 *Hansenula*에서는 퍼옥시좀 집단이 이질적이며 이미 형성된 퍼옥시좀은 새로이 합성된 효소를 흡수하지 않았다[103]. 이것은 고등식물의 떡잎에서 글라이옥시좀-퍼옥시좀-글라이옥시좀(제론토솜) 전이 동안 이질성을 보이지 않는 것과 ICL이 녹색 잎에서 합성되었을 때의 상황과 대조된다[67, 77, 98]. 여러 미세구조 연구에서 식물세포의 퍼옥시좀 증식 문제를 다루었다. 목화의 종자와 발아 묘목에서 이루어진 형태 측정 연구는 퍼옥시좀 분열에 대한 증거를 찾지 못하였으나 기존 세포 내 소기관의 극적인 확대를 보여주었다[62]. 유사한 결론은 오이의 떡잎, 녹화중인 콩의 잎 및 콩의 뿌리혹 발달과 관련된 연구에서 도출되었다[40, 72, 100]. 이 연구들에서 퍼옥시좀의 분열은 확인되지 않았으며, 퍼옥시좀의 증식은 수적 증가가 아니라 확대 및 분절화라는 결론에 도달하였다. 그러나 이러한 결과들과 대조적으로 *Lemna minor*의 퍼옥시좀은 강화된 빛의 조명에 의하여 카탈레이스와 GO의 활성을 증가시켰고, *Lemna*의 퍼옥시좀은 매우 불규칙하게 분열하거나 융합하는 모양을 보였고, 그것은 곰팡이와 동물의 퍼옥시좀에서 발생하는 것과 닮았다[29]. 많은 식물조직의 연구에서 퍼옥시좀 분열의 증거는 거의 없었다. 앞서 언급한 식물의 사례에서 대부분(지방 종자 떡잎 중)은 세포 성장기의 세포 확장에 따라 증식되는 것으로 보인다. 생물학의 핵심 원리 중 하나는 새로운 막은 기존의 막으로 부터 형성된다는 것이다. 형태학적으로 식별 가능한 퍼옥시좀의 발달이 없는 돌연변이체(효모 및 포유류 세포 등)에서 유전적 결함을 보완할 경우, 결실 단백질을 통합하기 위한 표적으로 작용하는 내막 구조의 흔적이 확인되었다[60, 88]. 이와 같은 흔적 막 구조는(미토콘드리아와 색소체 등) 생애에 걸쳐 모든 세포에 존재하고 적절한 세포신호에 반응하고 정교해지는 것으로 보인다. 또한 소포체막으로 부터 형성될 수도 있다. 식물 퍼옥시좀이 용적을 크게 확대할 수 있다는 것은 분명하지만, 증식을 유발하는 일련의 사건이나 그 최종 크기를 결정하는 것에 대해서는 알려진 바 없다. 퍼옥시좀 비대는 매질내 단백질 축적에 의해 유도된다는 증거가 있으며, 결절화한 퍼옥시좀의 주요 단백질은 퍼옥시좀 크기에 비례하여 감소하였다[64].

식물에서는 세 가지의 퍼옥시좀 발생 모델이 제시된

바 있다[45]. 모두 소포체막을 기반으로 형성되는 기원에서는 동일하다(Fig. 1). 첫째는 소포체막에서 단백질이 합성되고 동시에 막의 내부로 단백질이 자연스럽게 합입되는 ER 소포체 형성을 기원으로 하는 모델(ER vesiculation model)이다(Fig. 1A). 둘째는 소포체막을 뿌리로 형성된 기존의 퍼옥시좀이 분열하고 성장하는 성장-분열 모델(Growth and division model)로써 퍼옥시좀은 이후에 새로운 단백질을 수용하게 된다(Fig. 1B). 세번째도 소포체막을 기원으로 시작하여 먼저 퍼옥시좀 소낭이나 막의 분절화가 이루어진다. 여기에 퍼옥시좀 단백질의 사후 도입으로 소포체 유래 퍼옥시좀 전구체(ER-peroxisome intermediate compartment, ERPIC) 무리가 형성되면 단백질의 유입으로 1차 퍼옥시좀이 발생한 후 다음은 분열에 의해 증식한다는 소포체 유래 반자율 증식 모델(ER semi-autonomous model)이다(Fig. 1C). 효모를 포함한 동물과 식물 등 모든 진핵생물에서 퍼옥시좀의 발생과 증식은 소포체막을 시작으로 PEXs의 결합과 퍼옥시좀 단백질의 도입에 따른 성장과 분열에 의한 증식이 공통된 발생의 모델로 제시되고 있다[1].

Peroxin (PEX): Peroxisome biogenesis proteins

효모에서 처음으로 발견된 PAS1은 이후 PEX1으로 지정되며 퍼옥시좀의 발생과정에 에너지 요구성과 함께 소포체 막을 시발로 하는 퍼옥시좀 발생의 단초를 제공하였다[27, 43]. 퍼옥시좀의 발생에 요구되는 유전자인 PEX는 단백질 peroxin을 암호화한다[15, 23]. 이것은 퍼옥시좀의 매질로 유입되는 효소들(peroxisomal matrix enzymes, PMEs)의 수송에 관여하여 퍼옥시좀의 구성에 필수적으로 작용한다[1]. 효모에서만 23개의 PEX와, 사람에서는 15개의 PEX가 알려져 있다[35]. 식물에서는 애기장대의 유전체 전장 분석을 통해 총 15개의 PEX가 확인되었다[11]. 현재 진핵생물에서 알려진 peroxin은 총 37종류이다[49]. 앞서 기술한 바와 같이 peroxin은 퍼옥시좀 표적 수용 단백질의 PTS1과 PTS2를 인식하는 수용체 단백질로 퍼옥시좀의 매질로 유입되는 대부분의 효소 등 단백질의 수송에 필수 요소이다[49, 52, 79]. 또한 균류를 포함하는 진핵생물에서 퍼옥시좀의 발생과 기능에 핵심적인 역할을 담당하는 PEX 단백질의 진화적 보존성과 유사성은 매우 높다[49]. 특히 주요 기능을 담당하는 6개 영역의 PEX 그룹 단백질들은 모든 진핵생물들이 공유하고 있을 만큼 높은 유사성을 보존하고 있다(Table 1).

결론

식물에서의 PEX와 관련한 퍼옥시좀의 발생에 관한 연구는 매우 제한적으로 구체적인 연구가 이루어지지 않았다. 따라서 동물과 효모를 중심으로 이루어진 퍼옥시좀

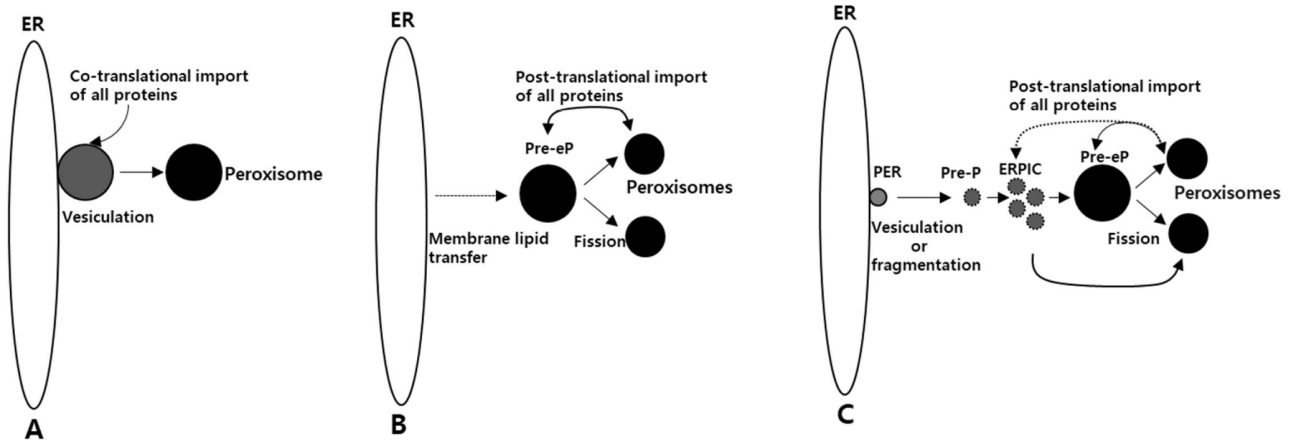


Fig. 1. Peroxisomes biogenesis models in plants. (A) ER vesiculation model, (B) Growth and division model, (C) ER semi-autonomous model. In the model of ER vesiculation (A), most of the peroxisomal proteins are synthesized co-translationally on the ER and then impounded into a specified region of the ER, where an expanding membrane vesicle finally buds off to yield a developing, functional peroxisome *de novo*. In the model of growth and division (B), all PMPs and proteins are synthesized on in the cytosol and sorted out via post-translationally to preexisting and new peroxisomes, resulting in their growth. New peroxisomes develop from preexisting peroxisomes by detachment, and the ER in some way provides the membrane lipids necessary for peroxisome growth. In the ER semiautonomous model (C), PMPs (group I PMPs) are post-translationally introduced either directly into the pER subdomain or initially into the general ER and then transferred to the pER. The following carriage of these group I PMPs and membrane lipids from the pER to preexisting and fresh peroxisomes contains the new formation through vesiculation and partition of presumed pre-peroxisomal transporters that travel to an ERPIC. Most of matrix proteins and group II PMPs are arranged post-translationally from the cytosol to new peroxisomes and preexisting peroxisomes, and possibly pre-peroxisomes at the ERPIC, the former may arise by fission [45].

Table 1. Conserved PEX protein groups in eukaryotes

PEX group	Main members
PMP* sorting/importing	PEX3, PEX16, PEX19
Matrix protein receptors	PEX5(9), PEX7
Receptor docking site components	PEX13, PEX14(33)
Receptor ubiquitylation enzymes	PEX2, PEX4, PEX10, PEX12
AAA+ ATPases**	PEX1, PEX6
Peroxisome proliferation PEX11 family	PEX25, PEX27, PEX34, PEX36

These are core set of PEX proteins which is central to peroxisome biology [49]. *Peroxisomal membrane protein, **ATPase associated with diverse cellular activities.

Numbers in parenthesis are same PEX proteins duplication found in yeast and fungi.

발생에 관한 가설을 식물에서도 적용 가능한 모델로써 활용할 수 있을 것으로만 참고할 뿐이다. 다만 PEX16은 식물을 포함한 연구된 효모와 동물에서도 초기 퍼옥시좀의 발생과정에는 공통적으로 참여하는 것으로 보인다. 특히 식물에서 퍼옥시좀의 생성은 초기 소포체 막을 시작으로 시발체로서 ERPIC의 형성으로 이후 기능적으로 완전한 퍼옥시좀으로의 발생을 도모하는 것으로 추정된다[1, 45]. 현재 식물에서 명확한 ERPIC의 역할이 규명되지 않았으나 소포체와 PEX와의 상호작용 등을 확인하고, 향후 추가적인 연구를 통하여 식물에서의 퍼옥시좀 초기 발생과 이후 발달에 관한 보다 구체적인 과정이 규명될 수

있을 것으로 기대한다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Agrawal, G. and Subramani, S. 2016. *De novo* peroxisomal biogenesis: Evolving concepts and conundrums. *Biochem. Biophys. Acta.* **1863**, 892-901.

2. Aitchison, J. D., Murray, W. W. and Rachubinski, R. A. 1991. The carboxyl-terminal tripeptide ala-lys-ile is essential for targeting *Candida tropicalis* trifunctional enzyme to yeast peroxisomes. *J. Biol. Chem.* **266**, 23197-23203.
3. Allen, R. D., Trelease, R. N. and Thomas, T. L. 1988. Regulation of isocitrate lyase gene expression in sunflower. *Plant Physiol.* **86**, 527-532.
4. Arkawa, H., Takiguchi, M., Amaya, Y., Nagata, S., Hayaishi, H. and Mori, M. 1987. cDNA derived amino acid sequence of rat mitochondrial 3-oxoacyl-CoA thiolase with no transient presequence: structural relationship with peroxisomal enzyme. *EMBO J.* **6**, 1361-1366.
5. Becker, W. M., Leaver, C. J., Weir, E. M. and Riezman, H. 1978. Regulation of glyoxysomal enzymes during germination of cucumber. I. Developmental changes in cotyledonary protein, RNA and enzyme activities during germination. *Plant Physiol.* **62**, 542-549.
6. Beevers, H. 1979. Microbodies in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **30**, 159-193.
7. Behari, R. and Baker, A. 1993. The carboxyl terminus of isocitrate lyase is not essential for import into glyoxysomes in an *in vitro* system. *J. Biol. Chem.* **268**, 7315-7322.
8. Borst, P. 1989. Peroxisome Biogenesis revisited. *Biochem. Biophys. Acta* **1008**, 1-13.
9. Bosch van der, K. A. and Newcomb, E. H. 1986. Immunogold localization of nodule specific uricase in developing soybean root nodules. *Planta* **167**, 425-436.
10. Cha, H. J. and Kim, D. J. 2014. Metabolic Gene expression in lipid metabolism during cotyledon development in cucumbers and the possibility of a secondary transport Route of Acetyl Units. *J. Life Sci.* **24**, 1055-1062.
11. Charlton, W. and Lopez-Huertas, E. 2002. PEX gene in plants and other organisms. In: Baker, A. and Graham, I. A. (Eds), *Plant peroxisomes*, (pp. 385-426). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
12. Comai, L., Dietrich, R. A., Maslyar, D. J., Baden, S. and Harada, J. J. 1989. Coordinate expression of transcriptionally regulated isocitrate lyase and malate synthase genes in *Brassica napus* L. *Plant Cell* **1**, 293-300.
13. Comai, L., Matsudaira, K. L., Heupel, R. C., Dietrich, R. A. and Harada, J. J. 1992. Expression of a *Brassica napus* malate synthase gene in transgenic tomato plants during the transition from late embryogeny to germination. *Plant Physiol.* **98**, 53-61.
14. Corpas, F. J., Gonzalez-Gordo, S. and Palma, J. M. 2020. Plant peroxisomes: A factory of reactive species. *Front. Plant Sci.* **11**, 1-12.
15. Crookes, W. J. and Olsen, L. J. 1999. Peroxin puzzles and folded freight: peroxisomal protein import in review. *Naturwissenschaften* **86**, 51-61.
16. De Bellis, L. and Nishimura, M. 1991. Development of enzymes of the glyoxylate cycle during senescence of pumpkin cotyledons. *Plant Cell Physiol.* **32**, 555-561.
17. De Bellis, L., Picciarelli, P., Pistelli, L. and Alpi, A. 1990. Localisation of glyoxylate cycle marker enzymes in peroxisomes of senescent leaves and green cotyledons. *Planta* **180**, 435-439.
18. De Bellis, L., Tsugeki, R. and Nishimura, M. 1991. Glyoxylate cycle enzymes in peroxisomes isolated from petals of pumpkin (*Cucubita* sp.) during senescence. *Plant Cell Physiol.* **32**, 1227-1235.
19. De Duve, C. 1965. Functions of microbodies (peroxisomes) {Abstract}. 5th Meeting American Society of Cell Biology. *J. Cell Biol.* **27**, 25A.
20. De Duve, C. and Baudhuin, P. 1966. Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiol. Rev.* **46**, 323-357.
21. De Duve, C. 1969. Evolution of the peroxisome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **168**, 369-381.
22. De Hoop, M. J. and Ab, G. 1992. Import of proteins into peroxisomes and other microbodies. *Biochem. J.* **286**, 657-669.
23. Distel, B., Erdmann, R. F., Gould, S. J., Blobel, G., Crane, D. I., Cregg, J. M., Dodt, G., Fujiki, Y., Goodman, J. M., Just, W. W., Kiel, J. A., Kunau, W. H., Lazarow, P. B., Mannaerts, G. P., Moser, H. W., Osumi, T., Rachubinski, R. A., Roscher, A., Subramani, S., Tabak, H. F., Tsukamoto, T., Valle, D., Klei, van der I., Veldhoven, van P. P. and Veenhuis, M. 1996. A unified nomenclature for peroxisome biogenesis factors. *J. Cell Biol.* **135**, 1-3.
24. Distel, B., Gould, S. J., Voorn-Brouwer, T., van der Berg, M., Tabak, H. F. and Subramani, S. 1992. The carboxyl-terminal tripeptide serine-lysine leucine of firefly luciferase is necessary but not sufficient for peroxisomal import in yeast. *New Biol.* **4**, 157-165.
25. Eising, R., Trelease, R. N. and Ni, W. 1990. Biogenesis of catalase in glyoxysomes and leaf-type peroxisomes of sunflower cotyledon. *Arch. Biochem. Biophys.* **278**, 258-264.
26. Erdmann, R. F. and Kunau, W. H. 1992. Genetic approach to the biogenesis of peroxisomes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell Biochem. Func.* **10**, 167-174.
27. Erdmann, R. F., Wiebel, F., Flessau, A., Rytka, J., Beyer, A., Fröhlich, K. U. and Kunau, W. H. 1991. *PAS1*, a yeast gene required for peroxisome biogenesis, encodes a member of a novel family of putative ATPases. *Cell* **64**, 499-510.
28. Fahimi, H. D., Baumgart, E. and Voekl, A. 1993. Ultrastructural aspects of the biogenesis of peroxisomes in rat liver. *Biochimie* **75**, 201-208.
29. Ferreira, R. M. B., Bird, B. and Davies, D. D. 1989. The effect of light on the structure and organisation of *Lemna* peroxisomes. *J. Exp. Bot.* **40**, 1029-1035.
30. Gietl, C. 1990. Glyoxysomal malate dehydrogenase from watermelon is synthesised with an amino terminal transit peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**, 5773-5777.
31. Gould, S. J., Keller, G. A. and Subramani, S. 1987. Identification of a peroxisomal targeting signal at the carboxy terminus of firefly luciferase. *J. Cell Biol.* **105**, 2923-2931.
32. Gould, S. J., Keller, G. A., Hosken, N., Wilkinson, J. and Subramani, S. 1989. A conserved tripeptide sort proteins to peroxisomes. *J. Cell Biol.* **108**, 1657-1664.

33. Gould, S. J., Keller, G. A., Schneider, M., Howell, S. H., Garrard, L. J., Goodman, J., Distel, B., Tabak, H. and Subramani, S. 1990. Peroxisomal protein import is conserved between yeast, plants, insects a mammal. *EMBO J.* **9**, 85-90.
34. Gould, S. J., Keller, G. A. and Subramani, S. 1988. Identification of peroxisomal targeting signals located at the carboxy terminus of four peroxisomal proteins. *J. Cell Biol.* **107**, 897-905.
35. Gould, S. J. and Collins, C. S. 2002. Peroxisomal-protein import: is it really that complex? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**, 382-389.
36. Graham, I. A., Leaver, C. J. and Smith, S. M. 1992. Induction of malate synthase gene expression in senescent and detached organs of cucumber. *Plant Cell* **4**, 349-357.
37. Graham, I. A., Smith, L. A., Brown, J. W. S., Leaver, C. J. and Smith, S. M. 1989. The malate synthase gene of cucumber. *Plant Mol. Biol.* **13**, 673-684.
38. Graham, I. A., Smith, L. M., Leaver, C. J. and Smith, S. M. 1990. Developmental regulation of expression of the malate synthase gene in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.* **15**, 539-549.
39. Greenler, J. M., Sloan, J. S., Schwarta, B. W. and Becker, W. M. 1989. Isolation, characterisation and sequence analysis of a full-length cDNA clone encoding NADH-dependent hydroxypyruvate reductase from cucumber. *Plant Mol. Biol.* **13**, 139-150.
40. Gruber, P. J., Becker, W. M. and Newcomb, E. H. 1973. The development of microbodies and peroxisomal enzymes in greening bean leaves. *J. Cell Biol.* **56**, 500-518.
41. Guiliano, G., Pichersky, E., Malik, V. S., Timko, M. P., Scolnik, P. A. and Cashmore, A. R. 1988. An evolutionarily conserved protein binding sequence upstream of a plant light regulated gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85**, 7089-7093.
42. Gut, H. and Matile, P. 1988. Apparent induction of key enzymes of the glyoxylic acid cycle in senescent barley leaves. *Planta* **176**, 548-550.
43. Heyman, J. A., Mononsov, E. and Subramani, S. 1994. Role of PAS1 gene of *Pichia pastoris* in peroxisome biogenesis. *J. Cell Biol.* **127**, 1259-1273.
44. Hondred, D., Wadle, D. M., Titus, D. E. and Becker, W. M. 1987. Light-stimulated accumulation of the peroxisomal enzymes hydroxypyruvate reductase and serine: glyoxylate aminotransferase and their translatable mRNAs in cotyledons of cucumber seedlings. *Plant Mol. Biol.* **9**, 259-275.
45. Hu, J., Baker, A., Bartel, B., Linka, N., Mullen, R. T., Reumann, S. and Zolman, K. 2012. Plant peroxisomes: Biogenesis and function. *Plant Cell* **24**, 2279-2303.
46. Huang, A. H. C., Trelease, R. N. and Moore, T. S. (Eds.) 1983. Plant peroxisomes. *Academic press*, New York.
47. Hurt, E. and Schatz, G. 1987. A cytosolic protein contains a cryptic mitochondrial targeting signal. *Nature* **325**, 499-503.
48. Imanaka, T., Small, G. M. and Lazarow, P. B. 1987. Translocation of Acyl-CoA oxidase into peroxisomes requires ATP hydrolysis but not a membrane potential. *J. Cell Biol.* **105**, 2915-2922.
49. Jansen, R. L. M., Santana-Molina, C., Noort, M van den., Devos, D. P. and Klei, I. J. van der. 2021. Comparative genomics of peroxisome biogenesis proteins: making sense of the PEX proteins. *Front. Cell. Dev. Biol.* **9**, 1-22.
50. Kamijo, K., Kamijo, T., Ueno, I., Osumi, T. and Hashimoto, T. 1992. Nucleotide sequence of the human 70 kDa peroxisomal membrane protein: a member of ATP-binding cassette transporters. *Biochem. Biophys. Acta* **1129**, 323-327.
51. Kamijo, K., Taketani, S., Yokota, S., Osumi, T. and Hashimoto, T. 1990. The 70-kDa peroxisomal membrane protein is a member of the Mdr (P-glycoprotein)-related ATP-binding superfamily. *J. Biol. Chem.* **265**, 4534-4540.
52. Kao, Y.-T., Gonzalea, K. L. and Bartel, B. 2018. Peroxisome function, biogenesis, and dynamics in plants. *Plant Physiol.* **176**, 162-177.
53. Kim, D. J. 2021. Development cucumber cotyledon in view of metabolic pathways and organelle. *J. Life Sci.* **31**, 778-785.
54. Kim, D. J., Do, T. K. and Yi, G. Y. 2005. Coordinate expression of senescence-associated genes both cotyledon and petal development in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Integr. Bios.* **9**, 127-133.
55. Kim, D. J. and Smith, S. M. 1994. Expression of a single gene encoding microbody NAD-malate dehydrogenase during glyoxysome and peroxisome development in cucumber. *Plant Mol. Biol.* **26**, 1833-1841.
56. Kindl, H. 1982. The biosynthesis of microbodies (peroxisomes, glyoxysomes). *Int. Rev. Cytol.* **80**, 193-229.
57. Kragler, F., Langeder, A., Raupachova, J., Binder, M. and Hartig, A. 1993. Two independent peroxisomal targeting signals in catalase A of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* **120**, 665-673.
58. Kudielka, R. A., Kock, H. and Theimer, R. R. 1981. Substrate dependent formation of glyoxysomes in cell suspension cultures of anise (*Pimpinella anisum* L.). *FEBS Lett.* **136**, 8-12.
59. Kunau, W. H. 1998. Peroxisome biogenesis: From yeast to man. *Curr. Opin. Microbiol.* **1**, 232-237.
60. Kunau, W. H., Beyer, A., Franken, T., Gotte, K., Marzioch, M., Saidowsky, Skaletz-Reorowski, A. and Wiebel, F. F. 1993. Two complementary approaches to study peroxisome biogenesis in *S. cerevisiae*; forward and reverse genetics. *Biochimie* **75**, 209-224.
61. Kunau, W. H., Buehne, S., de la Garza, M., Kionka, C., Mateblowski, M., Schultz-Borchard, U. and Thieringer, R. 1988. Comparative enzymology of β -oxidation. *Biochem. Soc. Trans.* **16**, 418-420.
62. Kuncce, C. M., Trelease, R. N. and Doman, C. 1984. Ontogeny of glyoxysomes in maturing and germinated cotton seeds-a morphometric analysis. *Planta* **61**, 156-164.
63. Lazarow, P. B. and Fujiki, Y. 1985. Biogenesis of peroxisomes. *Annu. Rev. Cell Biol.* **1**, 489-530.
64. Lee, N. G., Stein, B., Suzuki, H. and Verma, D. P. S.

1993. Expression of antisense nodulin-35 RNA in *Vigna aconitifolia* transgenic root nodules regards peroxisome development and affects nitrogen availability to the plant. *Plant J.* **3**, 599-606.
65. Luers, G., Hashimoto, T., Fahimi, H. D. and Volkl, A. 1993. Biogenesis of peroxisomes: Isolation and characterisation of two distinct peroxisomal populations from normal and regenerating rat liver. *J. Cell Biol.* **121**, 1271-1280.
66. Manzara, T., Carrasco, P. and Gruissem, W. 1991. Developmental and organ specific changes in promoter DNA-protein interactions in the tomato *rbcS* gene family. *Plant Cell* **3**, 1305-1316.
67. Marrison, J. L., Onyeocha, I., Baker, A. and Leech, R. M. 1993. Recognition of peroxisomes by immunofluorescence in transformed and untransformed tobacco cells. *Plant Physiol.* **103**, 1055-1059.
68. Martin, C., Beeching, J. R. and Northcote, D. H. 1984. Changes in levels of transcripts in endosperms of castor beans treated with exogenous gibberellic acid. *Planta* **162**, 68-76.
69. Middlekoop, E., Strijland, A. and Tager, J. M. 1991. Does aminotriazole inhibit import of catalase into peroxisomes by retarding unfolding? *FEBS Lett.* **279**, 79-82.
70. Miernyk, J. A., Trelase, R. N. and Choinski, J. S. 1979. Malate synthase activity in cotton and other ungerminated oilseeds. *Plant Physiol.* **63**, 1068-1071.
71. Miura, S., Kasuya-Arai, I., Mori, H., Miyazawa, S., Osumi, T., Hashimoto, T. and Fujiki, Y. 1992. Carboxyl-terminal consensus ser-lys-leu related tripeptide of peroxisomal proteins functions *in vitro* as a minimal peroxisome-targeting signal. *J. Biol. Chem.* **267**, 14405-14411.
72. Newcomb, E. H., Tandon, S. H. R. and Kowal, R. R. 1985. Ultrastructural specialization for ureide production in uninfected cells of soybean root nodules. *Protoplasma* **125**, 1-12.
73. Ni, W., Trelase, R. N. and Eising, R. 1990. Two temporally synthesised charge subunits interact to form the five isoforms of cottonseed (*Gossypium hirsutum*) catalase. *Biochem. J.* **269**, 233-238.
74. Ni, W. and Trelase, R. N. 1991. Two genes encode the two subunits of cotton seed catalase. *Arch. Biochem. Biophys.* **289**, 237-243.
75. Ni, W. and Trelase, R. N. 1991. Post-transcriptional regulation of catalase isozyme expression in cotton seeds. *Plant Cell* **3**, 737-744.
76. Nieri, B., Ciurli, A., Pistelli, L., Smith, S. M., Alpi, A. and De Bellis, L. 1997. Glyoxylate cycle enzymes in seedlings and in mature plants of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Sci.* **129**, 39-47.
77. Nishimura, M., Takeguchi, Y., De Bellis, L. and Hara-Nishimura, I. 1993. Leaf peroxisomes are directly transformed to glyoxysomes during senescence of pumpkin cotyledons. *Potoplasma* **175**, 131-137.
78. Olsen, L. J., Ettinger, W. F., Damsz, B., Matsudaira, K., Webb, A. and Harada, J. J. 1993. Targeting of glyoxysomal proteins in leaves and roots of a higher plant. *Plant Cell* **5**, 941-952.
79. Pan, R., Liu, J. and Hu, J. 2019. Peroxisomes in plant reproduction and seed-related development. *J. Integr. Plant Biol.* **61**, 784-802.
80. Pedrosa, G., Francisco, T., Bicho, D., Dias, A. F., Barros-Barbosa, A., Hagemann, V., Dodt, G., Rodrigues, T. A. and Azevedo, J. E. 2018. Peroxisomal monoubiquitinated PEX5 interacts with the AAA ATPases PEX1 and PEX6 and is unfolded during its dislocation into the cytosol. *J. Biol. Chem.* **293**, 11553-11563.
81. Pistelli, L., De Bellis, L. and Alpi, L. 1991. Peroxisomal enzyme activities in attached senescing leaves. *Planta* **184**, 151-153.
82. Preisig-Mueller, R. and Kindl, H. 1993. Thiolase mRNA translated *in vitro* yields a peptide with a putative N-terminal presequence. *Plant Mol. Biol.* **22**, 59-66.
83. Redingbaugh, M. G., Sabre, M. and Scandalios, J. G. 1990. The distribution of catalase activity, isozyme protein and transcript in the tissues of the developing maize seedling. *Plant Physiol.* **92**, 375-380.
84. Reynolds, J. S. and Smith, S. M. 1995. Regulation of expression of the cucumber isocitrate lyase gene in cotyledons upon seed germination and by sucrose. *Plant Mol. Biol.* **29**, 885-896.
85. Reynolds, J. S. and Smith, S. M. 1995. The isocitrate lyase gene of cucumber: Isolation, characterization and expression in cotyledons following seed germination. *Plant Mol. Biol.* **27**, 487-497.
86. Rodriguez, D., Dommès, J. and Northcote, D. H. 1987. Effect of abscisic and gibberellic acids on malate synthase transcripts in germination castor bean seeds. *Plant Mol. Biol.* **9**, 227-235.
87. Rodriguez, D., Ginger, R. S., Baker, A. and Northcote, D. H. 1990. Nucleotide sequence analysis of a cDNA clone encoding malate synthase of castor bean (*Ricinus communis*) reveals homology to DAL7 a gene involved in allantoin degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Plant Mol. Biol.* **15**, 501-504.
88. Santos, M. J., Imanaka, T., Shio, H., Small, G. M. and Lazarow, B. 1988. Peroxisomal membrane ghosts in Zellweger syndrome-aberrant organelle assembly. *Science* **239**, 1536-1538.
89. Sarah, C. J., Graham, I. A., Reynolds, S. J., Leaver, C. J. and Smith, S. M. 1996. Distinct *cis*-acting elements direct the germination and sugar responses of the cucumber malate synthase gene. *Mol. Gen. Genet.* **250**, 153-161.
90. Sautter, C. 1986. Microbody transition in greening watermelon cotyledons double immunocytochemical labeling of isocitrate lyase and hydroxypyruvate reductase. *Planta* **167**, 491-503.
91. Schwartz, B. W., Sloan, J. S. and Becker, W. M. 1991. Characterisation of genes encoding hydroxypyruvate reductase in cucumber. *Plant Mol. Biol.* **7**, 941-947.
92. Skadsen, R. W., Ruzsa, S. M. and Scandalios, J. G. 1990. Separate molecular mechanisms regulate CAT2 gene ex-

- pression before and after glyoxysome maturation in two genetic lines of maize. *Devel. Genet.* **11**, 280-288.
93. Sloan, J. S., Schwartz, B. W. and Becker, W. M. 1993. Promoter analysis of a light regulated gene encoding hydroxypyruvate reductase, an enzyme of the photorespiratory glycolate pathway. *Plant J.* **3**, 867-874.
 94. Small, G. M., Szabo, L. J. and Lazarow, P. B. 1988. Acyl-CoA oxidase contains two targeting sequences each of which can mediate protein import into peroxisomes. *EMBO J.* **7**, 1167-1173.
 95. Smith, S. M. and Leaver, C. J. 1986. Glyoxysomal malate synthase of cucumber: molecular cloning of a cDNA and regulation of enzyme synthesis during germination. *Plant Physiol.* **81**, 762-767.
 96. Stabenau, H. 1992. Phylogeny of peroxisomes in algae and higher plants. In: Stabenau, H. (Ed), *Phylogenetic changes in peroxisomes of algae/phylogeny of plant peroxisomes*. (pp. 143-154). University Press, Oldenburg, Germany.
 97. Swinkels, B. W., Gould, S. J., Bodnar, A. G., Rachubinski, R. A. and Subramani, S. 1991. A novel cleavable peroxisomal targeting signal at the amino terminus of rat 3-ke-toacyl-CoA thiolase. *EMBO J.* **10**, 3255-3262.
 98. Titus, D. E. and Becker, W. M. 1985. Investigation of the glyoxysome- peroxisome transition in germinating cucumber cotyledons using double label immunoelectron microscopy. *J. Cell Biol.* **101**, 1288-1299.
 99. Tolbert, N. E. 1981. Metabolic pathways in glyoxysomes and peroxisomes. *Annu. Rev. Biochem.* **50**, 133-157.
 100. Trelease, R. N., Becker, W. M., Gruber, P. J. and Newcomb, E. H. 1971. Microbodies (Glyoxysomes and Peroxisomes) in cucumber cotyledons correlative biochemical and ultrastructural study in light and dark grown seedlings. *Plant Physiol.* **48**, 461-465.
 101. Trelease, R. N. 1984. Biogenesis of glyoxysomes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**, 321-341.
 102. Turley, R. B. and Trelease, R. N. 1990. Development and regulation of three glyoxysomal enzymes during cotton seed maturation and growth. *Plant Mol. Biol.* **4**, 137-146.
 103. Veenhuis, M., Sulter, G., van der Klei, I. and Harder, W. 1989. Evidence for functional heterogeneity among microbodies in yeast. *Arch. Microbiol.* **151**, 105-110.
 104. Veenhuis, M. and Goodman, J. 1990. Peroxisomal assembly: membrane proliferation precedes the induction of the abundant matrix proteins in the methylotrophic yeast *Candida boidinii*. *J. Cell Sci.* **96**, 583-590.
 105. Vestweber, D. and Schatz, G. 1988. Mitochondria can import artificial precursor proteins containing a branched polypeptide chain or a carboxy-terminal stilbene disulphonate. *J. Cell Biol.* **107**, 2045-2049.
 106. Vincentini, F. and Matile, P. 1993. Gerontosomes, a multifunctional type of peroxisome in senescent leaves. *J. Plant Physiol.* **142**, 50-56.
 107. Volokita, M. 1991. The carboxy-terminal end of glycolate oxidase directs a foreign protein into tobacco leaf peroxisomes. *Plant J.* **1**, 361-366.
 108. Weir, E. M., Riezman, H., Grienenberger, J. M., Becker, W. M. and Leaver, C. J. 1980. Regulation of glyoxysomal enzymes during germination of cucumber; temporal changes in translatable mRNA for isocitrate lyase and malate synthase. *Eur. J. Biochem.* **112**, 469-477.
 109. Wolins, N. E. and Donaldson, R. P. 1993. High affinity binding of a peptide bearing the peroxisomal targeting sequence to glyoxysomal membranes. *Plant Physiol.* **102** (supplement), 148.
 110. Yamaguchi, J., Nishimura, M. and Akazawa, T. 1986. Purification and characterisation of heme containing low activity form of catalase from greening pumpkin cotyledons. *Eur. J. Biochem.* **159**, 315-322.
 111. Yamaguchi, Y., Nishimura, M. and Akazawa, T. 1984. Maturation of catalase precursor proceeds to a different extent in glyoxysomes and leaf peroxisomes of pumpkin cotyledons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **81**, 4809-4813.
 112. Zhang, J. Z., Gomez-Pedrozo, M., Baden, C. S. and Harada, J. J. 1993. Two classes of isocitrate lyase are expressed during late embryogeny and post-germination in *Brassica napus* L. *Mol. Gen. Genet.* **238**, 177-184.

초록 : 지방 저장 식물의 퍼옥시좀 생성과 발달

김대재*

(충북대학교 사범대학 생물교육과)

마이크로바디로 알려진 퍼옥시좀은 대부분의 진핵세포에서 흔히 발견되는 형태학적으로 유사한 세포내 소기관의 한 종류이다. 크기는 직경이 0.2~1.8 μm 이고 단일 막으로 싸여 있다. 매질은 일반적으로 미세한 입자이지만 때로는 결정체 또는 섬유질의 형태가 관찰된다. 이들은 특징적으로 과산화수소(H_2O_2)를 생성하는 산화효소를 가지고 있으며 효소 카탈레이스를 함유하여 세포 소기관 내에서 생성되는 유독한 H_2O_2 를 제거한다. 퍼옥시좀은 형태학적으로나 물질대사의 측면에서 진핵세포의 세포내 소기관으로써 대단히 역동적이다. 특히, 식물의 퍼옥시좀은 β -산화, 글라이옥실산 회로 및 광호흡 등을 포함한 수많은 대사 과정과 관련이 있다. 또한, 식물 퍼옥시좀은 중요한 식물 호르몬인 옥신, 살리실산 및 자스몬산의 합성과 스트레스에 대한 반응 및 발달에 관여한다. 지난 20년 동안 진핵생물의 퍼옥시좀 발생에 관한 연구는 동물과 효모에서 상당한 진전을 이루었다. 정교한 분자생물학 기술의 발전과 유전체학의 광범위 활용으로 대부분의 퍼옥시좀 관련 유전자와 단백질(peroxin, PEX)이 확인되었다. 또한, 최근에 단백질 연구의 적용은 퍼옥시좀 단백질의 표적화, 조절 및 분해에 대한 이해와 함께 식물 퍼옥시좀의 발생에 대한 기초 정보를 얻을 수 있게 되었다. 이와 같은 퍼옥시좀 발달에 관한 연구에 커다란 진전에도 불구하고, 퍼옥시좀이 ER에서 유래하여 조립되고 분열하는 과정에 대하여 여전히 많은 의문이 남아 있다. 퍼옥시좀은 식물 발달의 여러 측면에서 역동적인 역할을 수행하며, 이 논문에서는 식물 퍼옥시좀의 기능, 발생 및 역동성에 대한 이해를 위하여 그 동안의 연구 동향에 중점을 두었다.