

# 엽록체 유전자의 구조와 발현

문 은 표

아주대학교 생물학과

## 서론

세포내에 존재하는 엽록체와 미토콘드리아는 핵의 그것과 구별되는 유전체제를 갖고있다. 엽록체나 미토콘드리아의 genome은 핵의 genome에 비해 매우작고, 결과적으로 두 세포기관내에 존재하는 단백질을 모두 만드는데 부족하다. 이 두 세포기관에서 발견되는 단백질의 유전자의 대부분은 핵의 genome상에 있고, 단지 5%정도만이 세포기관의 genome위에 있다(Borst and Flavell, 1976; Wallace, 1982). 세포기관의 기능적 상호관계 이외에도 세 기관 사이의 DNA의 상호이동도 존재한다. 이 DNA의 이동에는 여섯가지 가능한 방향이 있으나, 현재까지는 엽록체나 미토콘드리아로부터 핵으로의 이동, 엽록체로 부터 미토콘드리아로의 이동의 예만 밝혀져있다(Fox, 1983; Farrelly and Butow, 1983; Timmis and Scott, 1983). 이러한 DNA가 이 세가지 기관 사이에서 이동이 이루어지는 메커니즘이나, 그 생물학적 의미에 대해서는 확실히 밝혀진 바가 없다. 그러나 세 가지의 가능한 메커니즘은 1) 세포기관의 융합이나 접촉을 통한 DNA transformation, 2) 다른 genome사이의 direct recombination, 3) plasmid, transposon 또는 virus 등과 같은 cytoplasmic 매개체에 의한 이동 등이다(Stern and Londale, 1982; Stern and Palmer, 1984).

고등식물의 엽록체 genome은 단일 환형구조이며, 미토콘드리아의 genome이 종마다 그 크기가 매우 다른것(200~2,000 Kb)과는 대조적으로 엽록체의 genome은 대개 120~217 Kb로 비슷하다. 엽록체의 genome은 소수의 예를 제외하면 10~76 Kb 크기의 inverted repeat을 한쌍 포함하고 있는데, 이들이 80 Kb, 20 Kb 정도의 큰 single copy부위와 작은 single copy부위를 각각 그 사이에 두고 있다(Ohyama et al., 1986; Palmer 1985).

또한 미토콘드리아의 유전체제와는 달리 엽록체의 유전체제는 prokaryote의 그것과 매우 유사하다(Weil, 1987; Whitfeld and Bottomley, 1983). 첫째, 엽록체의 전사단위는 주로 polycistronic 이며, *E. coli*의 operon과 유사하게 이루어

져있다. 둘째, 엽록체 유전자와 *E. coli* 유전자는 그 염기서열이 매우 유사하다. 셋째, 60여개의 엽록체 유전자의 upstream에 있는 염기서열을 분석한 결과 엽록체 유전자의 전사기구는 구조적, 기능적으로 prokaryote의 그것과 매우 비슷하다 (Link, 1984; Gruissem and Zurawski, 1985). 즉 엽록체 유전자의 5'-과 3'-끝에는 *E. coli*의 promoter 요소인 -10, -35 부위, terminator가 존재하고, *E. coli*의 RNA polymerase는 *in vitro*, *in vivo*에서 엽록체 유전자를 정확하게 전사할 수 있는데, 이것은 prokaryote의 promoter를 닮은 염기서열을 인식한 결과로 보인다. 또한, 여러 엽록체 유전자의 이러한 promoter 요소에 대한 *in vitro* mutagenesis(염기대체, 삭제, 추가)실험으로 17bp + 1으로 서로 분리되어 있는 -10, -35 promoter 요소는 그 유전자의 정확한 전사에 필수적이라는 것을 밝힘으로써 이들 요소의 promoter로서의 기능은 prokaryote에서의 그것과 매우 유사하다는 것이 재확인되었다(Gruissem and Zurawski, 1985).

엽록체의 전사기구가 이상과 같이 여러가지 점에서 전체적으로 prokaryote적인 특성을 갖고 있으나, 최근의 연구에 의하면 엽록체와 박테리아의 promoter 사이에는 중요한 세부적인 차이가 있다. 첫째, 엽록체와 *E. coli*의 polymerase는 서로 다른 물리적 특성이 있다. 박테리아의 polymerase는 rifampicin의 존재하에서 전사를 시작할 수 없으나, 엽록체 효소는 영향을 받지 않는다(Grissem et al., 1983; Orozco, 1985). 둘째, 엽록체는 *in vitro*에서 전사를 시작하는데 super-coil된 template를 필요로 하며, novobicin에 의해 억제되는 반면, *E. coli* polymerase는 선상의 relax된 상태의 엽록체 template를 전사한다 (Stirdivant et al., 1985). 또한 엽록체의 RNA polymerase는 *E. coli*의 그것보다 엽록체 DNA template에 대해 훨씬 더 높은 promoter 특이성을 보인다 (Hanley-Bowdoin et al., 1985). 엽록체 유전체제의 가장 중요한 특징은 앞서 기술한 바와 같이 핵 유전체제가 엽록체 유전자 발현을 직, 간접으로 지배한다는 점이다. 이 관점에서 볼때, 빛에 의해 그 발현이 조절되는 광합성에 관계되는 효소, 그 중에서도 rbcL(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase의 large subunit의 유전자)의 유전자가 가장 좋은 연구 대상의 하나이다. 이 효소는 자연계에서 가장 흔한 단백질로 CO<sub>2</sub>를 탄수화물로 고정시키는 광합성과정에 관여하는 효소로

식물체에서는 엽록체 내에 있다. 이 효소는 8개의 큰 구성단위체와 8개의 작은 구성단위체로 이루어져있다. 식물에서는 큰 구성단위체를 만드는 유전자인 rbcL은 엽록체의 DNA상에, 작은 구성단위체를 만드는 rbcS는 핵의 DNA상에있다.

옥수수과 시금치 등에서는 빛의 정도와 조직별로 다른 rbcL 발현 수준이 알려져 있다. 또한 엽록체 유전자 rbcL과 핵의 유전자 rbcS간의 매우 긴밀한 발현에 관한 조절메카니즘이 존재한다고 본다. 그러나 현재까지는 이 조절기구의 요소는 알려져 있지 않다. 이러한 점에서 본 연구에서는 광합성을 주기적으로하는 벼의 엽록체 유전자의 구조와 발현메카니즘에 관한 연구의 대상으로 rbcL유전자 체제를 선택하였다.

# 본 론

## 1. rbcL유전자군의 multiple copy분리와 분석(Moon et al., 1987)

Monocistronic인 rbcL유전자는 polycistronic인 atp $\beta$ -atp $\epsilon$  유전자들과 함께 rbcL유전자군을 이루고 있다. 이 rbcL유전자를 포함하는 DNA조각을 분리하기 위해, 첫단계로 시금치의 rbcL을 probe로 하여, Hind III 제한효소로 분해된 벼의 genomic DNA를 Southern hybridization을 하였다. 특이하게, Hind III로 제한된 벼의 genomic DNA에는 적어도 7개의 band가 hybridize 되었다(Fig.1). 같은 Southern blot을 rbcL과 근접한 atp $\beta$ , atp $\epsilon$ 으로 2차 hybridization한 결과 거의 같은 pattern을 얻었다. 이는 각각의 band가 rbcL유전자군 rbcL-atp $\beta$ - atp $\epsilon$  이나 그 변형을 포함하고 있으며, 따라서 band pattern의 multiplicity는 벼의 total genomic DNA에 이 유전자군이 multiple copy로 존재함을 의미한다. 또한 4개체의 벼로부터 각각 분리해낸 DNA를 이용하여, 똑같은 방법으로 Southern hybridization한 결과, rbcL유전자군의 multiplicity는 집단단위로 나타나는 것이 아니라, 각 개체마다 나타나는 것으로 밝혀졌다.

각 band는 세가지기관 즉, 엽록체, 미토콘드리아, 핵중의 하나에서 유래된 것인데, 각 band의 이 organelle origin을 밝혀 내기 위해 엽록체, 미토콘드리아, 핵 등에서 각각 추출한 순도높은 DNA를 이용하여 똑같은 방법으로 Southern hybridization을 하였다. 각 DNA에서 나타나는 이들 band 각각의 상대적 강약도를 분석한 결과 9.5 Kb와 5.3 Kb는 엽록체의 DNA상에 그 나머지들은 미토콘드리아의 DNA상에 있는 것으로 나타났다.

다음단계로 벼의 total genomic library를 제조하여 이들 각 band를 나타내는 Hind III DNA조각을 분리해낸 후, 각각 pCt-3(9.5 Kb), pMt-0(6.9 Kb), pMt-1(5.8 Kb), pCt-1(5.3 Kb), pMt-2(3.0 Kb), pMt-3(2.5 Kb), pMt-4(1.5 Kb)라 명하였다. 이들 각각의 clone으로부터 plasmid DNA를 정제한후, restriction mapping과 Southern hybridization을 통해 rbcL-atp $\beta$ -atp $\epsilon$ -trnM-trnV 유전자군의 유전자들을 각 Hind III DNA조각에 각각 배치하였다(Fig.2).

Kb

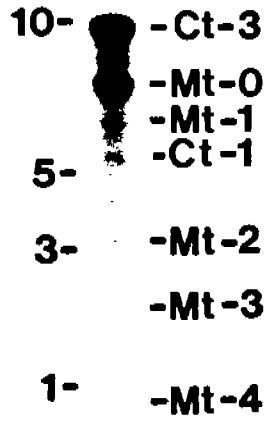


Fig. 1. 벼의 total genomic DNA hybridization 분석. 벼의 genomic DNA(5 $\mu$ g)을 HindIII 분해하여, 0.9%의 agarose gel로 전기 영동한 후 Nytran filter로 blot한 후 시금치 rbcL로 hybridization 하였다.

RESTRICTION MAPS AND GENE LOCALIZATION FOR pCt-1, pCt-3  
AND pMt-0

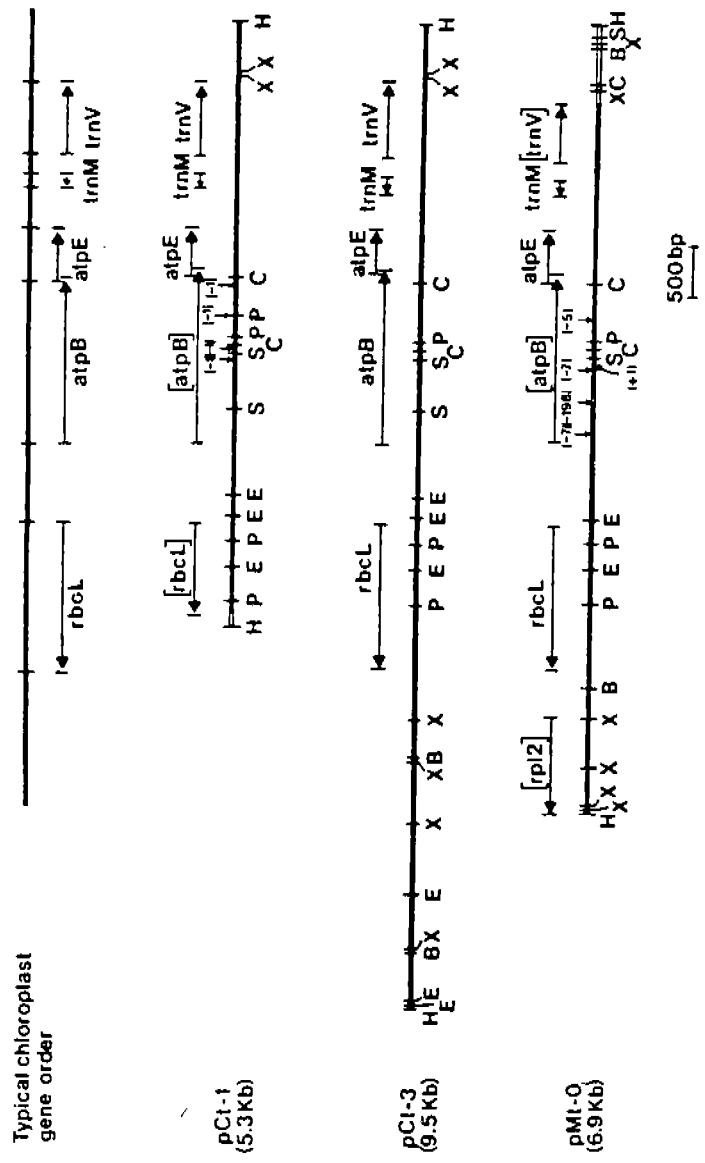


Fig. 2. ct-1, ct-2, Mt-0 clone의 restriction map과 유전자 배치. 화살표위의 숫자는 삭제되거나 첨가된 염기쌍을 나타내며 [ ]는 결손 유전자(pseudogene)를 나타낸다. 약자: B, Bgl II; C, Cla I; E, EcoR I; H, Hind III; P, Pst I; S, Sst I; X, Xba I

## 2. 두개의 다른 엽록체 rbcL유전자군의 분석(Moon et al., 1987a, 1987b)

엽록체에 존재하는 것으로 보여진 ct-3, ct-1의 염기서열을 상세히 분석한 결과, 주류인 ct-3는 완벽한 rbcL-atpβ-atpξ-trnM-trnV유전자군을 포함하는 것으로 나타났다. 반면에 아류인 ct-1의 rbcL의 경우 initiation codon으로부터 834 bp이후에는 156 bp의 알 수 없는 염기서열이 HindⅢ 절단끝까지 계속됐다. 또한 ct-1의 atpβ역시 염기 삭제등의 변이가 있는 것이 밝혀졌다. 따라서, ct-1은 기능을 할 수 없는 rbcL유전자(pseudogene)군을 갖고 있는 것으로 나타났다.

## 3. ct-1의 pseudo atpβ의 발현(Moon, 1988)

Pseudo atpβ의 유전자는 그 "-35"promoter요소에 염기 하나가 대체되었고 coding에 4개의 염기가 삭제됨으로써 498개의 아미노산 중 296개의 아미노산을 가진 변형 atpβ합성만이 가능하다. 이 불완전한 atpβ 유전자의 발현여부를 transcription과 translation의 두 단계로 조사하였다. 1) Transcription 단계에서는 변형된 promoter를 포함하는 atpβ의 5'upstream을 promoter가 없는 chloramphenicol acetyl transferase(CAT)유전자에 붙여 *E. coli*에서 CAT활성을 측정함으로써 pseudo atpβ의 promoter의 전사능력을 알아보았다(Fig.3). 그 결과 pseudo atpβ의 변형된 promoter는 CAT의 발현을 유도해 내었으며 이것은 이 promoter가 그 유전자인 atpβ를 전사시킬 수 있음을 의미하며 따라서 pseudo atpβ가 벼의 엽록체 내에서 그 mRNA를 생성함을 말한다. 2) 이 mRNA로부터 생성될 것으로 보여지는 product를 조사하였다. pseudo atpβ로부터 생성될 단백질은 498이 아닌 246 a.a크기이므로, ct-3의 완전한 atpβ유전자로부터 생성될 단백질과 protein gel에서 전기영동으로 구별될 수 있다. 벼 엽록체내에서의 pseudo atpβ산물의 존재를 확인하기 위해 시금치 atpβ단백질에 대한 토끼의 polyclonal 항체를 이용하여 Western blot을 한 결과, 단지 ct-3의 atpβ로부터 형성된 완전 단백질만이 확인되고, ct-1으로부터의 결손단백질은 검출되지 않았다. 이것은 ct-1의 copy수가 적어 mRNA가 적고, 단백질 산물의 양도 ct-3의 그것보다 훨씬 적기 때문이거나, ct-1의 단백질이 결손체이므로 ATPase 효소복합체로 구성되지 못하고 엽록체내의 단백질 분해효소에 의해 빨리 제거되었기 때문으로 보인다.



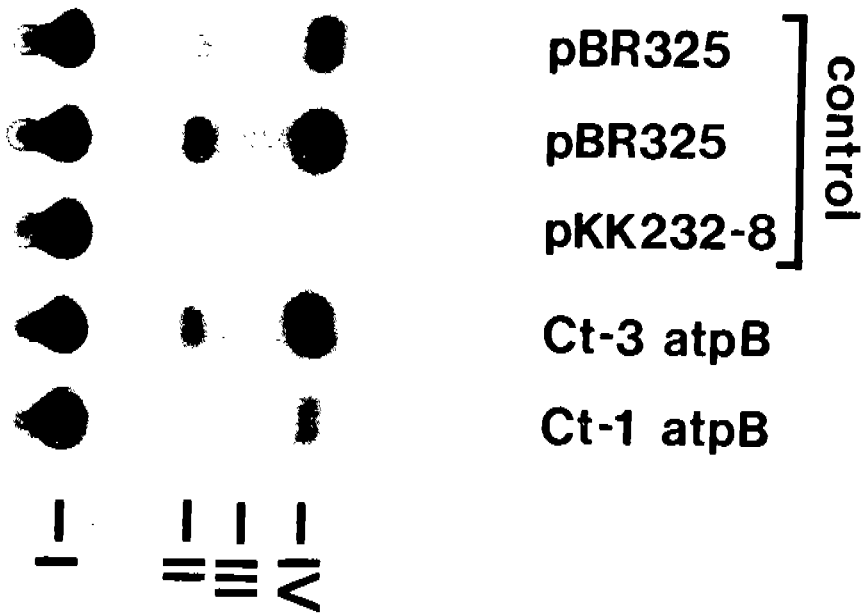


Fig. 3. CAT 유전자에 융합된 pseudo *atpB*에 의해 생성된 CAT 분석산물의 chromatograph. *atpB*-CAT 융합 유전자로 형질전환된 *E. coli*로부터의 추출물, acetyl coA, [<sup>14</sup>C]-chloramphenicol을 반응한 후 그 산물을 silica gel plate에 전개 시켰다. pBR325로 형질전환된 *E. coli*의 추출물과 pKK232-8(promoter가 없는 CAT 유전자를 가진 plasmid)로 형질전환된 *E. coli*의 추출물을 각각 positive 와 negative control로 이용하였다. I: [<sup>14</sup>C]-chloramphenicol IV: CAT단백질의 활성에 의해 acetylated된 [<sup>14</sup>C]-chloramphenicol (CAT assay의 산물)

#### 4. 미토콘드리아로 이동된 *rbcL*유전자군의 분석(Moon et al., 1988)

미토콘드리아내에 존재하는 것으로 나타난 여러개의 *rbcL*유전자군중 Mt-0와 Mt-1, Mt-2를 특히 상세히 분석하였다.

##### (1) 엽록체 *rbcL*유전자군의 미토콘드리아로의 이동시기

Mt-0의 restriction map은 엽록체의 *ct-3*의 그것과 매우 유사하며, Mt-1, Mt-2의 그것은 상당히 다르다(Fig.2). 더 상세한 염기서열 결정으로 Mt-0의 염기서열은 *ct-3*의 그것에 비해 91%의 유사성을, Mt-1과 Mt-2은 73%의 유사성을 갖고

있는 것을 밝혔다. 이 두 그룹이 유전자군에 나타나는 염기의 변이정도는 두번의 다른 DNA이동시기를 의미한다. 즉 Mt-0는 Mt-1이나 Mt-2보다 훨씬 늦게 이동한 것으로 보인다. 이것은 세포기관사이의 DNA이동이 계속되는 과정임을 시사한다.

2) 미토콘드리아로 이동된 엽록체 DNA의 정착과 발현

이동된 *rbcL* 유전자군 중 주류인 Mt-0는 *rbcL* downstream에 특이하게 *rpl2* 유전자를 갖고 있다(Fig. 2). 이 *rpl2* 유전자는 엽록체 유전자로 대개의 경우 엽록체 genome상의 두 inverted repeat의 끝에 있음으로써, *rbcL*로부터 각각 20 Kb, 40 Kb 떨어져있다. 미토콘드리아에서의 엽록체 유전자 *rpl2*가 *rbcL*로 근접하게 재배치된 메카니즘을 밝혀내기 위해, 먼저 그 origin인 벼 엽록체안의 *rpl2*를

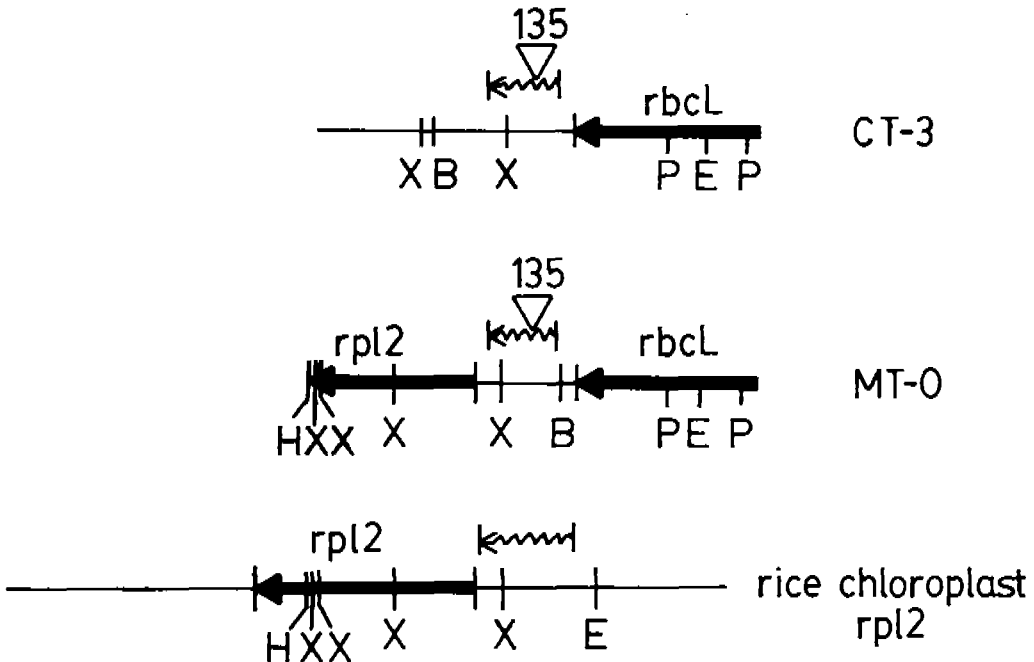


Fig. 4. ct-3, Mt-0와 *rpl2*를 포함하는 clone에서의 151 bp의 위치. 굵은 화살표는 *rbcL*, *rpl2* 유전자의 전사방향을 나타내며 파도형 화살표는 151 bp repeat을 나타낸다. 삼각형은 엽록체의 *rpl2*에 근접한 135 bp에 비교하여 나타난 135 bp의 염기 삭제를 나타낸다. 제한효소의 약자 : B, Bgl II; C, Cla I; E, EcoR I; H, Hind III; P, Pst I; S, Sst I; X, Xba I

분리 분석하였다(Moon and Wu, 1988a). 엽록체의 rpl2를 sequencing한 결과, 151 bp의 DNA조각이 rpl2의 upstream과 rbcL의 downstream에 공통으로 존재하는 것으로 밝혀졌다(Fig. 4). 따라서 두 유전자의 끝에 공통으로 존재하는 151 bp repeat를 통해 homologous recombination에 의해 두 유전자사이의 DNA가 삭제됨으로써 두 유전자가 서로 근접하게 재배치된 것으로 보인다(Fig. 5). 미토콘드리아로 이동된 이들 유전자군의 발현여부는 미토콘드리아와 엽록체의 전사기구를 비교하여 추정할 수 있다. 별도로 연구된 미토콘드리아 유전자의 promoter는 eukaryote의

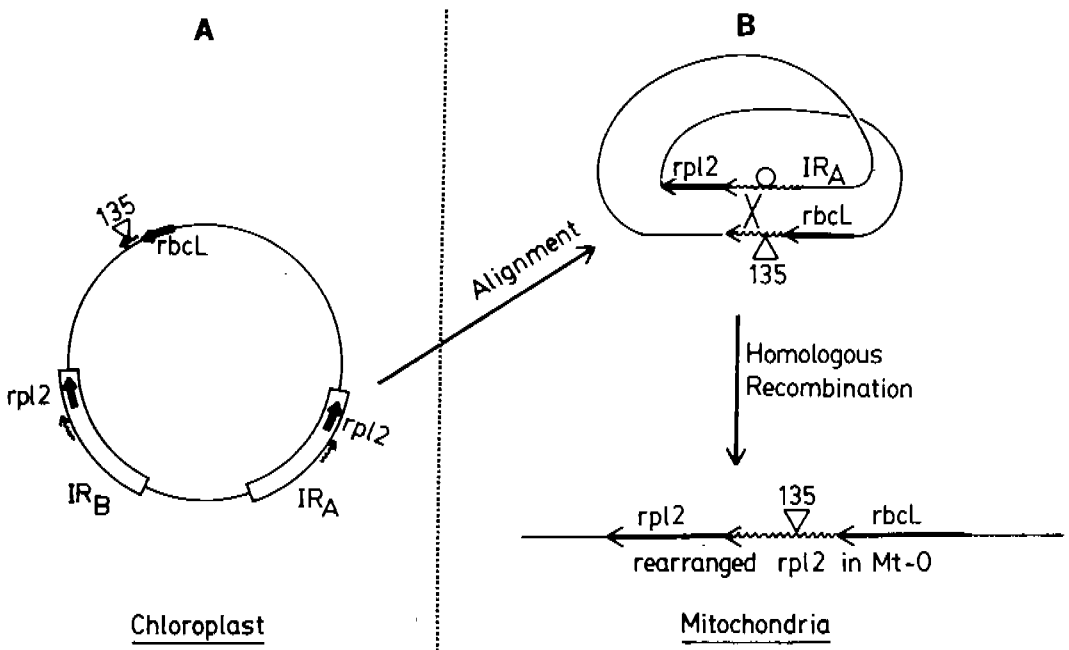


Fig. 5. Mt-0에서 151 bp repeat를 통한 homologous recombination에 의해 일어난 rpl2유전자의 재배치 기작을 설명하는 모식도. 모든 표시는 Fig. 4와 동일함.

핵내 유전자나, 엽록체 (또는 prokaryote) 유전자의 그것과 매우 다르다(Moon et al., 1985). 따라서, 미토콘드리아로 이동된 엽록체 유전자가 미토콘드리아내에서 발현되지 못함을 알 수 있다.

#### 5. 엽록체 유전자의 cosmid library제조와 분석

앞서 기술한 *rbcL*유전자군의 multiple copy를 더욱 상세하게 분석하고 벼의 엽록체 genome의 전체적인 구조와 유전자 배치등을 결정하기 위해 cosmid library를 제조하였다. 이 cosmid library는 벼의 total genomic DNA를 *Sau3A*로 부분 분해한 후 40~45Kb크기의 DNA조각을 분리하여 cosmid vector인 pWE15에 넣음으로써 만들어졌다. *rbcL*, *psbA*, *rp12*, *atp1*, *cytF* 등을 혼합하여 만든 probe를 이용, library를 screen하여, 200개의 cosmid clone(C1~C200)bank를 얻었다(Moon and Wu, 1988b). 따라서 이 200개의 cosmid clone은 벼의 엽록체 유전자의 일부를 각각 부분적으로 포함하고 있다. 이들 200개의 cosmid clone을 restriction mapping과 Southern hybridization으로 분석한 결과 엽록체 genome 전체를 대표하는 5개의 clone을 분리 확인하였다.

Fig.6은 벼의 엽록체상에서의 이들 5개의 clone(C30, C50, C155, C161, C162)의 위치를 보여준다(Moon and Wu, 1990). 한편 엽록체의 *rbcL*유전자군의 아류인 *ct-1*을 포함하는 cosmid clone을 분리하여 restriction mapping과 subcloning, chromosome walking 등의 방법을 이용하여 근접한 염기서열을 결정하는 실험이 진행중이다. 또한 이 cosmid bank로부터 재조합된 *rbcL*유전자군을 갖고 있는 미토콘드리아 DNA인 Mt-0를 포함하는 2개의 cosmid clone을 분리확인하였으며 Mt-1, Mt-2를 포함하는 cosmid clone을 분리하여, 위의 방법을 이용, 상세히 분석하고있다.

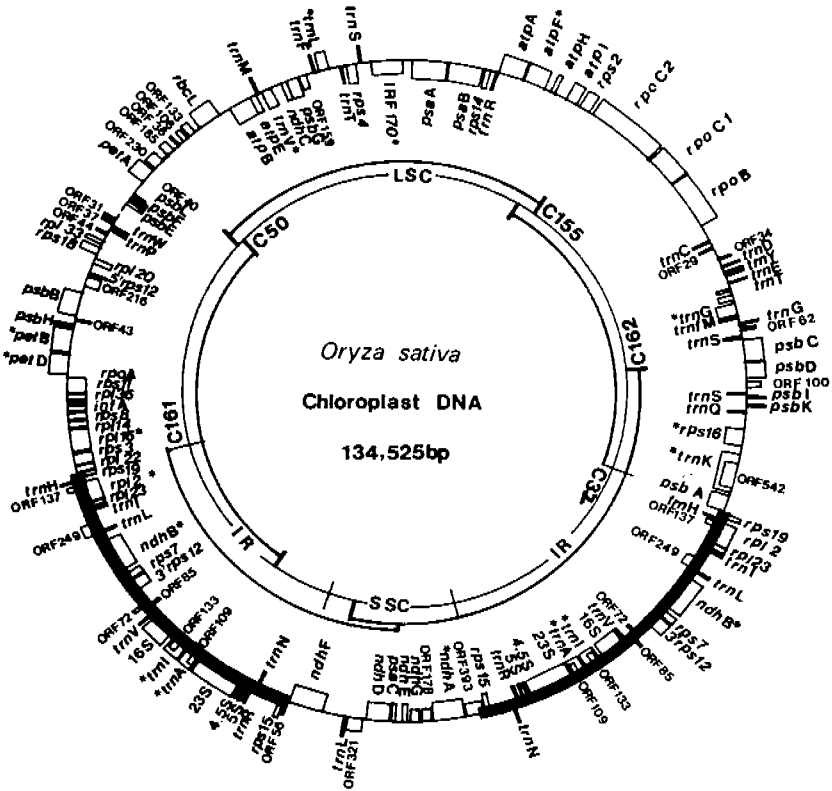


Fig. 6. 벼의 엽록체상에서의 5개의 cosmid clone의 위치. 원래 담배와 petunia 엽록체 genome을 기간으로 한 배치들, 후에 발표된 벼의 엽록체 genome(Hiratsuka et al., 1989)위에 이동 배치한 것이다.

## 결 론

벼의 엽록체 유전자 중 특히 그 주기능인 광합성에 관여하는 가장 핵심효소를 만드는 *rbcL* 유전자가 분리, 연구되었다. 벼의 *rbcL* 유전자는 매우 독특하게 multiplicity를 나타내며 이들 중 5개 copy가 상세히 분석되었다. 엽록체에 존재하는 *rbcL* 유전자군 중 두 copy의 염기배열이 분석되었고 그 발현을 조절하는 5'upstream 염기 순서도 분리 분석되었다. 또한 미토콘드리아에 이동 정착된 *rbcL* 유전자에 대해서도 자세히 분석, 그 염기 서열과 발현 여부 등이 결정되었다. 다음 단계로, 핵의 유전체계를 통한 *rbcL* 유전자 발현에 있어서의 빛에 의한 조절 등이 집중적으로 연구될 것이다.

## 참고 문헌

- Borst, P. and R. A. Flavell. 1976. In Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, 3rd ed. Nucleic Acids, vol.2, Fasman, G. D. (ed.) pp.363-374 CRC press.
- Farrelly, F. and R. A. Butow. 1983. Rearranged mitochondrial genes in the yeast nuclear genome. *Nature* 301:296-301.
- Fox, T. D. 1983. Mitochondrial genes in the nucleus. *Nature* 301:371-372.
- Gruissem, W., B. M. Greenberg, G. Zurawski, D. M. Prescott and R. B. Hallick. 1983. Biosynthesis of chloroplast transfer RNA in a spinach chloroplast transcription system. *Cell* 35:815-828.
- Gruissem, W. and G. Zurawski. 1985. Analysis of promoter regions for the spinach chloroplast *rbcl*, *atpB* and *psbA* genes. *EMBO J.* 4:3375-3383.
- Hanley-Bowdoin, L., E. M. Orozco, Jr. and N-H. Chua. 1985. In Molecular Biology of the Photosynthetic Apparatus. Arntzen, C., L. Bogorad, S. Bonitz and K. Steinbasck. (eds.). pp.311-318. Cold Spring Harbor Press.
- Hiratsuka, J., H. Shimada, R. Whittier, T. Ishibashi, M. Sakamoto, M. Mori, C. Kondo, Y. Honji, C-R. Sun, B-Y. Meng, Y-Q. Li, A. Kanno, Y. Nishizawa, A. Hirai, K. Shinozaki and M. Sugiura. 1989. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa*) chloroplast genome: Intermolecular recombination between distinct tRNA genes accounts for a major plastid DNA inversion during the evolution of the cereals. *Mol. Gen. Genet.* 217:185-194.
- Link, G. 1984. DNA sequence requirements for the accurate transcription of protein-coding plastid gene in a plasmid *in vitro* system for mustard (*Sinapis alba* L.). *EMBO J.* 3:1697-1704.

- Moon, E. 1988. Structure and expression of the mitochondrial COII gene and characterization of multiple copies of the chloroplast rbcL gene cluster in rice. Ph. D. Thesis, Cornell University.
- Moon, E. and R. Wu. 1988a. Organization and nucleotide sequence of genes at the two junction between the two inverted repeats and the large single-copy region in rice chloroplast genome. *Gene* 70:1-12.
- Moon, E. and R. Wu. 1988b. Unpublished data.
- Moon, E. and R. Wu. 1990. Unpublished data.
- Moon, E., T-H. Kao and R. Wu. 1985. Pea cytochrome oxidase subunitII gene has no intron and generates two mRNA transcripts with different 5'-termini. *Nucleic Acids Res.* 13:3195-3212.
- Moon, E., T-H. Kao and R. Wu. 1987a. Rice chloroplast DNA molecules are heterogeneous as revealed by DNA sequences of a cluster of genes. *Nucleic Acids Res.* 15:611-630.
- Moon, E., T-H. Kao and R. Wu. 1987b. Sequence of the chloroplast-encoded atp $\beta$ -atp $\xi$ -trnM gene clusters from rice. *Nucleic Acids Res.* 15:4358-4359.
- Moon, E., T-H. Kao and R. Wu. 1988. Rice mitochondrial genome contains a rearranged chloroplast gene cluster. *Mol. Gen. Genet.* 213:347-253.
- Ohyama, K., H. Fukuzawa, T. Kohchi, H. Shirai, T. Sano, S. Sano, K. Umesono, Y. Shiki, M. Takeuchi, Z. Chang, S. Aota, H. Inokuchi and H. Ozeki. 1986. Chloroplast gene organization deduced from complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA. *Nature* 322:572-574.
- Orozco, E. M. Jr., J. E. Mullet and N-H. Chua. 1985. An *in vitro* system for accurate transcription initiation of chloroplast protein genes. *Nucleic Acids Res.* 13:1283-1302.



- Palmer, J. D. 1985. Comparative organization of chloroplast genomes. *Ann. Rev. Genet.* 19:325-354.
- Stern, D. B. and D. M. Lonsdale. 1982. Mitochondrial and chloroplast genomes of maize have a 12-kilobase DNA sequence in common. *Nature* 299:698-702.
- Stern, D. B. and J. D. Palmer. 1984. Extensive and widespread homologies between mitochondrial DNA and chloroplast DNA in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:1946-1950.
- Stirdivant, S. M., L. D. Crossland and L. Bogorad. 1985. DNA supercoiling affects *in vitro* transcription of two maize chloroplast genes differently. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:4886-4890.
- Timmis, J. N. and N. S. Scott. 1983. Sequence homology between spinach nuclear and chloroplast genomes. *Nature* 305:65-67.
- Wallace, D. C. 1982. Structure and evolution of organelle genomes. *Microbiol. Rev.* 46:208-240.
- Weil, J. H. 1987. Organization and expression of the chloroplast genome. *Plant Science* 49:149-157.
- Whitfeld, P. R. and W. Bottomley. 1983. Organization and structure of chloroplast genes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 34:279-310.