

스트레스 물질에 의한 벼 glutathione peroxidase 활성패턴 변화

김윤경 · 이미영*

순천향대학교 생명과학부

Alterations of Glutathione Peroxidase Patterns by Stressor Treatment in Rice Seedling Roots

Yoon Kyoung Kim and Mi Young Lee*

Division of Life Sciences, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam 336-745, Korea

Received November 15, 2004; Accepted March 9, 2005

The effect of various stressors such as reductant ascorbic acid, signalling molecules (salicylic acid and methyl jasmonic acid), heavy metals (NiCl₂ and MnSO₄) and NaCl on the glutathione peroxidase (GPX) activities and isoenzyme expression patterns were investigated in rice seedling roots. Total GPX activity increased according to the increase of ascorbic acid concentration. Prominent enhancement of GPX1 isozyme due to ascorbic acid contributed to the increase of total GPX activity. GPX showed different reactivity toward salicylic acid and methyl jasmonic acid. GPX activity increased at 0.1 mM salicylic acid, and then decreased thereafter. However, GPX increased gradually in a methyl jasmonic acid concentration-dependent manner, and 3 fold increase of GPX activity was found at 1 mM methyl jasmonic acid. Moreover, GPX1 isozyme increased according to the increase of salicylic acid, while GPX1 isozyme decreased according to the increase of methyl jasmonic acid. When metal ions were treated, GPX activity increased considerably according to the increase of NiCl₂ concentration, however, GPX activity increased about 2 fold at 0.5 mM CuSO₄, and then decreased. Enhancement of GPX1 isozyme contributed to the increase of total GPX activities in NiCl₂-treated and MnSO₄-treated rice seedlings. Total GPX activity increased 1.7 fold in response to 300 mM NaCl. Especially GPX2 isozyme showed gradual increase according to the increase of NaCl concentration.

Key words: glutathione peroxidase, stressors, total activity, isoenzyme pattern

서 론

식물의 생육은 다양한 환경적 요인인 고광, 저온, 고염, 건조, 영양 결핍, 이산화탄소, 이산화황과 자외선 등의 영향을 크게 받는다. 환경오염과 더불어 불리한 생육조건에서는 정상적인 산소분자 외에 superoxide anion, singlet oxygen, hydrogen peroxide, hydroxy radical 등 반응성이 강하고 독성이 큰 활성 산소종(reactive oxygen species)이 생성된다.¹⁾ 이들 활성 산소종은 강한 산화력을 가지고 있어 세포막 분해, 단백질 분해, DNA 합성 억제, 광합성 억제, 엽록체 파괴 등 생체에 심각한 생리적인 장애를 준다. 환경 스트레스 유발물질은 식물의 생산성에 영향을 미치는 주요한 인자로서, 환경오염에 의해 발생하는 식물피해의 상당부분은 세포수준에서 활성 산소종에 의한 산화적인 손상과 밀접하게 관련되어 있다.²⁾ 따라서 식물체는 다양한 환경적 스트레스에 의해 유도된 산화 스트레스의 독성으로부터

자신을 보호하기 위하여 glutathione peroxidase(GPX), superoxide dismutase(SOD), peroxidase(POD), catalase(CAT), glutathione reductase(GR), ascorbate peroxidase(APX), glutathione-S-transferase (GST) 등의 항산화효소로 이루어진 항산화 방어기구를 가지고 있다. 다양한 항산화 효소는 활성 산소종 및 과산화지질을 효과적으로 제거할 수 있으나,³⁾ 제거되지 못한 활성산소의 과도한 축적은 스트레스에 대한 세포내 방어기구의 불활성화를 야기할 수도 있다.

Glutathione peroxidase(GPX: 1. 11. 1. 9)는 동물의 경우 대개 cytosolic GPX,⁴⁾ gastrointestinal GPX,⁵⁾ plasma GPX⁶⁾와 phospholipid hydroperoxide GPX⁷⁾의 4가지 동위효소군으로 구성되어 있다. GPX는 20 kDa 혹은 23 kDa 소단위체의 homotetramers로 구성되어 있으며, 조직과 기관 발생에 따라 현저한 기질 특이성을 보인다. 그러나 식물에서는 아직 그 기능이 명확히 밝혀지지 않고 있다. 그러나 최근의 보고에 따르면 GPX가 사과 미분화 세포의 저온처리 시에 나타났을 뿐만 아니라,⁸⁾ 보리(*Hordeum vulgare*)에 SO₂를 처리했을 때 GPX 활성이 증가하였고,⁹⁾ 이끼류인 *Tortula ruralis*를 건조시켰을 때 GPX의 활성이 증가하였다.¹⁰⁾ 부분 정제된 GPX 활성은 구조유

*Corresponding author

Phone: 82-41-530-1355; Fax: 82-41-530-1355

E-mail: miyoung@sch.ac.kr

인 *Thalassiosira pseudonana*와 각종 고등식물의 배양세포에서도 나타났다.¹¹⁾ 한편 GPX 활성을 나타내는 여러 단백질이 보고되었는데, 효모(*Hansenula mrakii*)에서 분리한 28 kDa의 막 단백질은 phospholipid hydroperoxides에 대한 촉매 활성은 나타냈지만 H₂O₂에 대한 활성은 나타내지 않았다.¹²⁾ *Aloe vera*에서는 16 kDa의 tetrameric seleno-protein,¹³⁾ 조류(*Euglena gracilis*와 *Chlamydomonas reinhardtii*)에서는 selenium을 포함한 tetrameric protein으로 존재한다는 것이 보고되었다.^{14,15)} Glutathione peroxidase의 활성 유지에 glutathione S-transferase (GST)가 반드시 필요하다는 보고가 있으며 GST가 나타내는 촉매작용에서 GPX가 함께 나타난다는 보고도 있다.¹⁶⁾ *Nicotiana sylvestris*,¹⁷⁾ *Citrus sinensis*,¹⁸⁾ *Avena fatua*¹⁹⁾와 *Arabidopsis thaliana* 등의 식물에서 동물의 phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase(PHGPX) 유전자와 상동성이 높은 유전자 서열이 분리되었다. 벼에서는 GPX관련 유전자로 *ricPHGPX*²⁰⁾와 *OsGPXI*²¹⁾가 밝혀져 있다. *ricPHGPX* 유전자는 산화적 스트레스 뿐만 아니라 고광에서도 강하게 발현되었으며,²⁰⁾ *OsGPXI* 유전자의 경우에도 NaCl, 저온과 건조 스트레스에 의해서 민감하게 반응하여 발현되었음이 보고되었다.²¹⁾ 다수의 동위효소로 이루어진 효소들 중 특히 peroxidase는 동위효소의 발현 패턴이 세포의 성장과 노화, 환경조건 등에 따라서 변화하기 때문에 어느 특수조건에서의 peroxidase 동위효소의 발현 패턴 변화를 생리 생화학적인 기능과 연결시키고자 하는 노력이 많이 시도되었다. 본 연구에서는 명조건에서 성장한 벼(*Oryza sativa* cv. Dong-Jin) 유묘가 다양한 스트레스 물질에 노출되었을 때, 뿌리의 glutathione peroxidase 활성변화와 동위효소의 발현 프로파일 변화 뿐만 아니라 다양한 스트레스 물질에 대한 glutathione peroxidase 동위효소의 차별적 반응성을 살펴보았다.

재료 및 방법

식물재료. 침종시킨 동진벼 종자의 줄기가 위를 향하도록 하여 60-70 개체씩을 지지판에 심은 다음, 3 일 동안 3차 증류수에서 재배한 후 5 일 동안 Hoagland's 배양액에서 수경재배 하였다. 명조건의 동진벼 종자는 Light: Dark의 비율이 12:12의 32°C 배양기 안에서 5일간 배양시켰으며, 배양시킨 뿌리를 회수한 후 액체질소를 사용하여 급속 냉동시켜 -70°C의 극저온 냉동기에서 실험 전까지 보관하였다.

스트레스 물질 처리. 환원제인 ascorbic acid 처리가 GPX 활성과 동위효소 발현에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Hoagland's 배양액에서 자란 벼 유묘를 0.1, 0.5, 1 mM ascorbic acid가 포함되어 있는 배양액으로 옮겨서 32°C에서 48 시간 동안 반응시켰다. 식물 신호전달 물질인 salicylic acid와 methyl jasmonic acid가 GPX 활성과 동위효소 발현에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Hoagland's 배양액에서 자란 벼 유묘를 각각 0.1, 0.5, 1 mM salicylic acid와 0.1, 0.3, 0.5 mM methyl jasmonic acid가 포함되어 있는 배양액으로 옮겨 32°C에서 48시간 동안 반응시켰다. 중금속인 NiCl₂, CuSO₄가 GPX 활성과 동위효소 발현에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Hoagland's 배양액에서 자란 벼 유묘를 각각 0.1, 0.5, 1 mM

NiCl₂ 혹은 CuSO₄가 포함되어 있는 배양액으로 옮겨 32°C에서 48시간 동안 반응시켰다. 염분에 의한 GPX 활성과 동위효소 발현변화를 조사하기 위하여 Hoagland's 배양액에서 자란 벼 유묘를 각각 100, 200, 300 mM NaCl이 포함되어 있는 배양액으로 옮겨 32°C에서 48시간 동안 반응시켰다.

Glutathione peroxidase의 추출. 각 농도 조건에 따라 처리된 벼 유묘의 뿌리 1 g을 막자사발에 넣고 액체질소를 가하여 파쇄한 후, 0.1% Triton X-100, 1% PVPP, 1 mM DTT, 1 mM EDTA와 2 mM ascorbic acid가 포함되어 있는 50 mM sodium phosphate 완충용액(pH 7.0) 2 ml를 넣고 다시 파쇄하였다. 파쇄된 시료를 4°C, 12,000 rpm에서 20분 동안 원심분리한 후 같은 조건하에서 한번 더 원심분리하여 사용하였고 분리된 상등액은 -70°C에서 효소활성 측정 전까지 보관하였다.

Glutathione peroxidase 활성 측정. 효소반응액은 50 mM potassium phosphate 완충용액(pH 7.0), 2 mM EDTA, 2 mM GSH, 0.1 mM NADPH, 1 U glutathione reductase, 0.09 mM H₂O₂에 100°C의 효소액을 가하여 최종부피가 1 ml가 되게 하

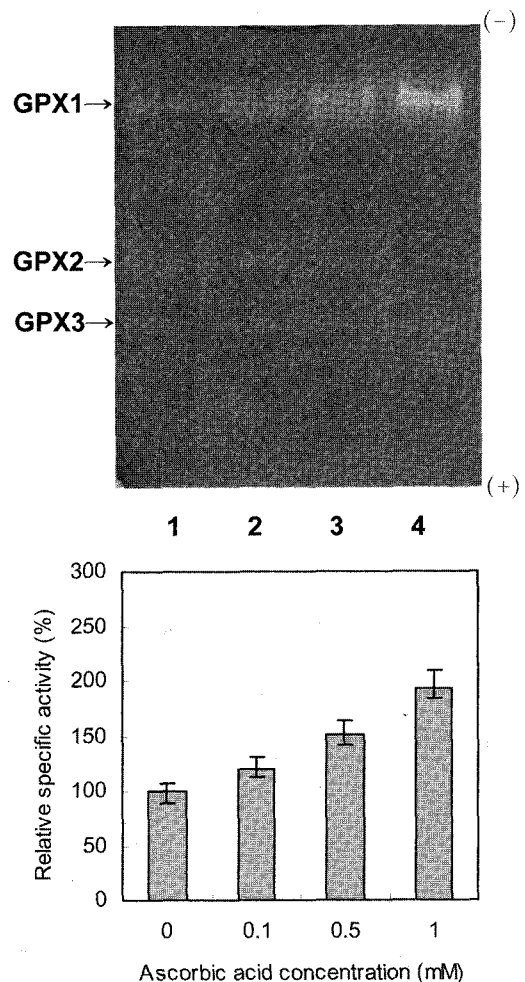


Fig. 1. Alterations of glutathione peroxidase isoenzyme patterns and specific activities in the roots of rice seedlings exposed to ascorbic acid. Proteins were separated by native PAGE (9% polyacrylamide gels) and stained for glutathione peroxidase activity. 1) control; 2) 0.1 mM ascorbic acid; 3) 0.5 mM ascorbic acid; 4) 1 mM ascorbic acid.

였다. 효소반응은 상온에서 반응혼합액에 효소액을 가하여 시작하며, 초기 반응속도는 NADPH의 산화에 따른 340 nm에서의 흡광도 감소로 측정하였다. 효소 1 unit는 상온의 반응조건에서 1분 동안 1 nmole의 NADP⁺ 생성에 필요한 효소의 양으로 정하였다. 효소활성은 세 종류의 시료에 대하여 각각 3회 반복하여 측정된 후 평균과 표준편차를 구하였으며 효소활성은 단위 단백질양에 대한 비활성도(specific activity)를 기준으로 설정하였다. 효소액의 단백질 정량은 Bradford²²⁾법을 사용하였고, 표준 단백질은 bovine serum albumin을 사용하였다.

Native polyacrylamide gel electrophoresis와 활성염색. Native polyacrylamide gel electrophoresis는 Laemmli²³⁾의 방법을 수정하여 실험하였다. 효소액을 5% acrylamide로 된 stacking gel과 9% acrylamide로 된 separating gel을 포함하는 평판 겔에 주입하여 전기이동을 수행하였다. 전개 후 겔을 13 mM glutathione과 0.004% H₂O₂가 포함 되어 있는 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.9)에 넣고 20분 동안 반응시킨 후 3차 증류수로 세척하고 1.2 mM 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-

diphenyltetrazolium bromide(MTT)와 1.6 mM phenazine methosulfate (PMS)가 포함되어 있는 용액에 두었다가 단백질 띠가 생성될 때까지 반응시켰다.²⁴⁾

결과 및 고찰

환경제에 의한 glutathione peroxidase의 변화. 동물세포에서는 glutathione peroxidase가 과산화수소를 제거할 수 있는 주요 항산화효소로 알려져 있는데 비해, 식물세포에서 과산화수소의 직접적인 제거에는 glutathione peroxidase 뿐만 아니라 ascorbate peroxidase와 catalase가 많이 참여한다고 알려져 있다.²⁵⁻²⁸⁾ Ascorbate peroxidase 혹은 catalase 등에 의해서 제거되지 않은 잔여 과산화수소의 경우 비효소적 분해반응으로 분해되면서 지질과산화물을 형성하게 되면 지질과산화물 특이적인 lipid hydroperoxide glutathione peroxidase나 glutathione-S-transferase가 지질과산화물 제거반응에 참여할 것으로 제안된 바 있다.²⁹⁾ 본 연구에서는 각종 스트레스 유발물질에 의한 동진벼(*Oryza*

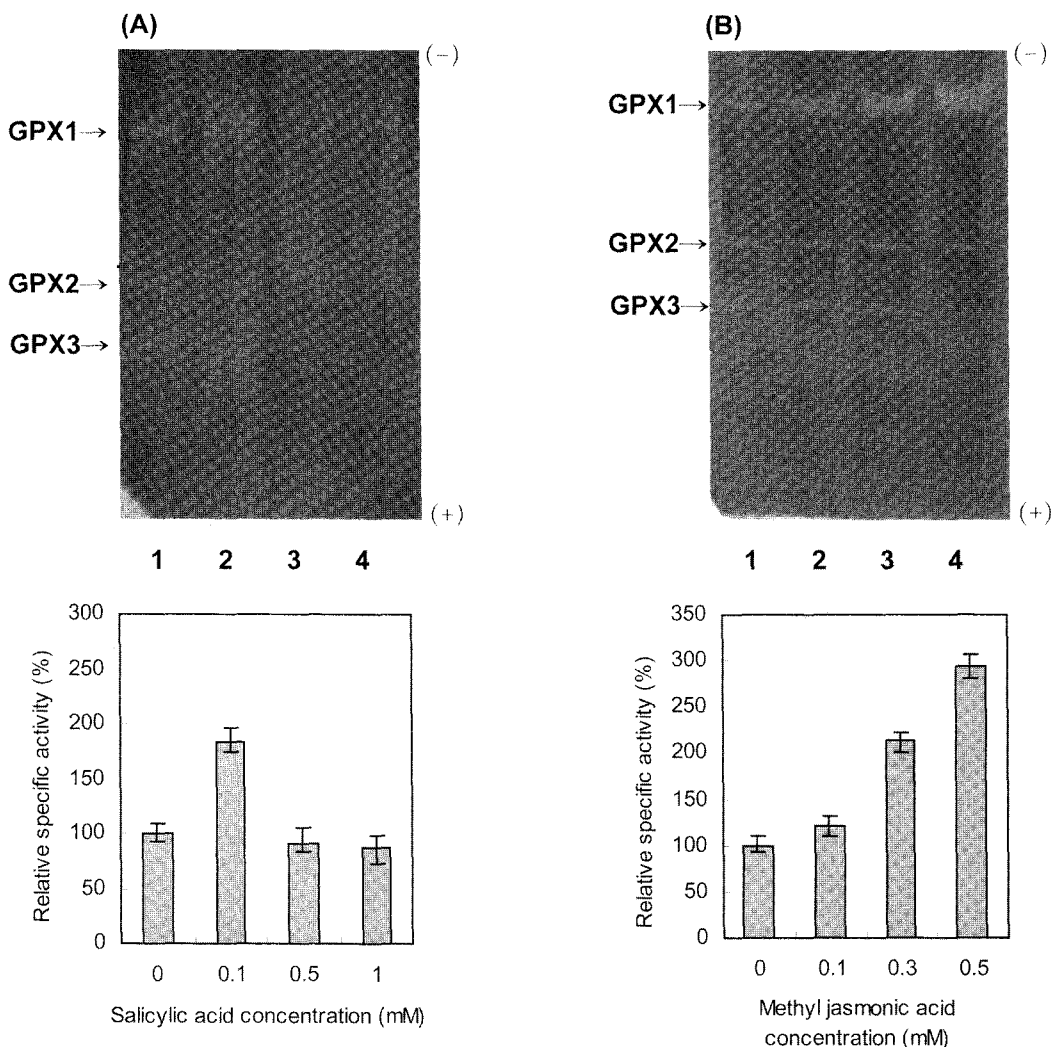


Fig. 2. Alterations of glutathione peroxidase isoenzyme patterns and specific activities in the roots of rice seedlings exposed to salicylic acid (A) and methyl jasmonic acid (B). (A) 1) control; 2) 0.1 mM salicylic acid; 3) 0.5 mM salicylic acid; 4) 1 mM salicylic acid. (B) 1) control; 2) 0.1 mM methyl jasmonic acid; 3) 0.3 mM methyl jasmonic acid; 4) 0.5 mM methyl jasmonic acid.

sativa cv. Dong-Jin) 뿌리의 glutathione peroxidase의 비활성도 변화와 동위효소의 발현패턴 변화를 살펴보았다. 전기영동 상에서의 활성염색을 통하여 동진 벼 뿌리에 존재하는 주요 glutathione peroxidase 동위효소는 3가지로 나타났으며, 각 동위효소의 명칭은 양극으로의 이동거리를 기준으로 GPX1, GPX2, GPX3로 정하였다(Fig. 1). Ascorbic acid 처리가 벼 유묘의 glutathione peroxidase에 미치는 영향을 조사한 결과, 0.1 mM에서 1 mM의 ascorbic acid로 처리된 유묘 뿌리 glutathione peroxidase의 총활성은 ascorbic acid 농도증가에 의존적으로 증가하였으며 1 mM ascorbic acid 처리군의 총활성은 대조군에 비하여 약 1.9배 증가하였다. Ascorbic acid의 처리농도에 따른 동위효소의 발현변화를 조사하기 위하여 활성염색을 수행한 결과, GPX1 동위효소 발현은 ascorbic acid 농도가 증가할수록 현저하게 증가하였으나, GPX2와 GPX3 동위효소는 ascorbic acid 농도가 증가할수록 점차 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 GPX의 동위효소가 ascorbic acid에 대하여 서로 다르게 반응함을 시사하는데, 동위효소로 구성된 효소의 경우 개별 동위효소마다 세포내에서의 반응성이 다르고 서로 다른 생리기능을 수행할 가능성이 있다는 보고 내용과도 일치하고 있다.³⁰⁾

신호전달물질에 의한 GPX의 변화. 식물세포의 신호전달 물질인 salicylic acid와 methyl jasmonic acid는 병원균 감염이나 스트레스 물질에 대한 세포내 방어반응에 관련된 신호전달을 매개한다. 이 신호전달 과정은 다수의 복합반응으로 구성되어 있는데, 과민반응 뿐만 아니라 세포막에 결합된 인산화효소와 인산화 반응을 통해 목표유전자의 유도과 억제반응을 일으키기도 한다. 또한 salicylic acid와 methyl jasmonic acid는 세포내에서 서로 다른 방어관련 신호전달을 매개한다고 알려져 있다.³¹⁾ Salicylic acid는 methyl jasmonic acid와 달리 주로 염분과 삼투 스트레스에 대한 방어반응에서 신호전달물질로 작용한다고 제안된 바 있다.³¹⁾ Salicylic acid 처리 후 총활성은 0.1 mM salicylic acid 처리에 의해 대조군에 비해 약 1.8배 증가되었다가 이후 salicylic acid 농도가 0.5와 1 mM로 증가함에 따라 감소되었다(Fig. 2-A). 이와 달리 methyl jasmonic acid 처리군의 경우 총활성은 methyl jasmonic acid 농도 증가에 의존하여 점진적으로 증가하였고, 0.5 mM methyl jasmonic acid에 의해 약 3배의 활성증가를 나타내었다(Fig. 2-B). Methyl jasmonic acid에 의한 glutathione peroxidase의 급격한 활성증가는 산화스트레스에 대한 방어시스템에 이 효소가 직접적으로 관여할 가능

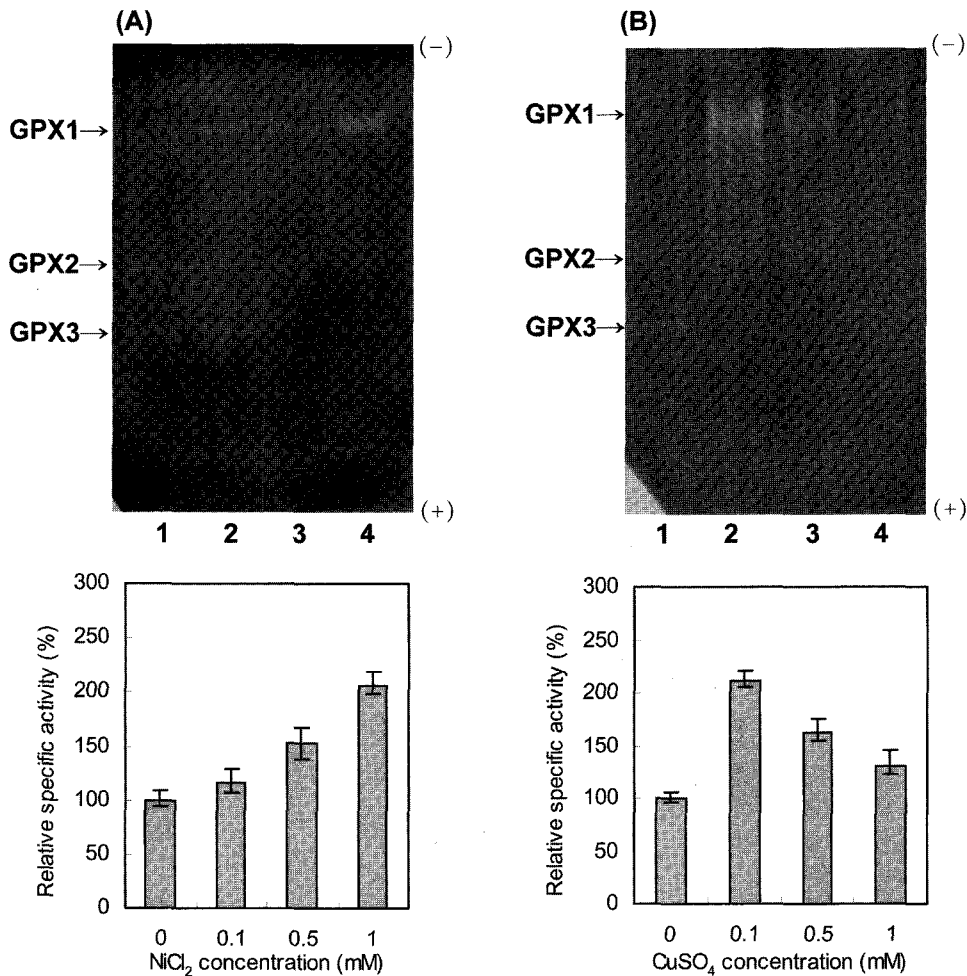


Fig. 3. Alterations of glutathione peroxidase isoenzyme patterns and specific activities in the roots of rice seedlings exposed to NiCl₂ (A) and CuSO₄ (B). (A) 1) control; 2) 0.1 mM NiCl₂; 3) 0.5 mM NiCl₂; 4) 1 mM NiCl₂. (B) 1) control; 2) 0.1 mM CuSO₄; 3) 0.3 mM CuSO₄; 4) 0.5 mM CuSO₄.

성을 제시한다. 동위효소의 발현패턴을 살펴보면 GPX1 동위효소는 salicylic acid 처리농도가 증가할수록 상당히 감소하였으나, methyl jasmonic acid의 경우 처리농도가 증가할수록 GPX1이 급격하게 증가하였다. GPX2 동위효소는 salicylic acid와 methyl jasmonic acid 처리 후 큰 변화를 보이지 않았다. GPX3 동위효소의 경우 salicylic acid 0.1 mM 처리군에서 증가하였으나 0.5 mM와 1 mM에서는 거의 소멸되었으며, methyl jasmonic acid 처리군에서는 큰 변화를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 GPX의 동위효소가 개별 신호전달물질에 대해서 차별적인 반응성을 나타낸다는 것을 보여준다. 특히 GPX1이 salicylic acid와 methyl jasmonic acid에 대해 차별적인 반응성을 보이는 본 결과는 salicylic acid와 methyl jasmonic acid가 벼 뿌리에서도 서로 다른 기작을 통하여 방어관련 반응에 관여할 가능성을 시사하고 있다. 이미 담배의 guaiacol peroxidase 동위효소들이 salicylic acid 처리에 대하여 서로 다르게 반응한다는 결과를 보고한 바 있다.³²⁾ Arabidopsis의 glutathione peroxidase는 AtGPX1에서 AtGPX7까지 7개의 동위효소 군으로 존재하는데 각 유전자는 각종 abiotic stress인 염, 저온, 고온 salicylic acid, jasmonic acid와 abscisic acid 등에 대하여 서로 다른 반응성을 나타냈다.³³⁾ 또한 벼의 phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase 유전자(*OsPHGPX*) 발현의 경우 명조조건에서 jasmonic acid 처리에 의해서 유전자 발현이 증가하였으나 암조조건에서는 오히려 감소하였다. 또한 jasmonic acid와 salicylic acid를 함께 처리했을 때 *OsPHGPX* 유전자 발현이 공동상승적으로 증가하였다.³⁴⁾

중금속과 NaCl에 의한 GPX의 변화. Glutathione peroxidase의 활성과 동위효소 발현 패턴에 중금속과 NaCl이 미치는 영향을 조사하였다. NiCl_2 처리에 의해 glutathione peroxidase의 총활성은 NiCl_2 농도증가에 의존적으로 증가하였다(Fig. 3A). 이에 비해 CuSO_4 처리군의 glutathione peroxidase의 총활성은 0.5 mM CuSO_4 에 의해 약 2배 증가하였지만 이후 고농도의 CuSO_4 에 의해 감소하였으나 대조군에 비해서는 여전히 높은 활성을 유지하였다(Fig. 3B). 활성염색을 통한 동위효소 분석결과 NiCl_2 처리농도가 증가할수록 GPX1 동위효소의 활성이 점진적으로 증가하여 뚜렷하게 염색되었다. GPX1 동위효소의 활성증가는 NiCl_2 처리에 의해 유발된 세포내 산화스트레스에 대한 방어시스템의 하나로 추측할 수 있다. 그러나 GPX2 동위효소와 GPX3 동위효소는 NiCl_2 처리농도가 증가할수록 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 0.1 mM CuSO_4 에 의해 glutathione peroxidase의 총활성은 약 2배 이상의 증가를 보였는데 이는 주로 동위효소 GPX1의 현저한 증가에 기인하였다. GPX3는 전 농도의 CuSO_4 처리군에서 염색되지 않았으며, 이러한 결과는 GPX3 동위효소의 활성이 GPX1과 GPX2 동위효소에 비하여 CuSO_4 에 의해 더 민감하게 불활성화됨을 보여준다.

NaCl 처리에 의한 glutathione peroxidase의 변화를 조사한 결과, 300 mM NaCl 처리군에서 glutathione peroxidase의 총활성은 대조군에 비해 약 1.7배 정도 증가되었으나, 500 mM NaCl 처리시 대조군보다 낮은 활성을 나타내었다. NaCl 농도 증가에 따른 동위효소의 발현을 살펴보면 GPX1의 활성이 총활성의 결과와 마찬가지로 300 mM에서 현격하게 증가하였

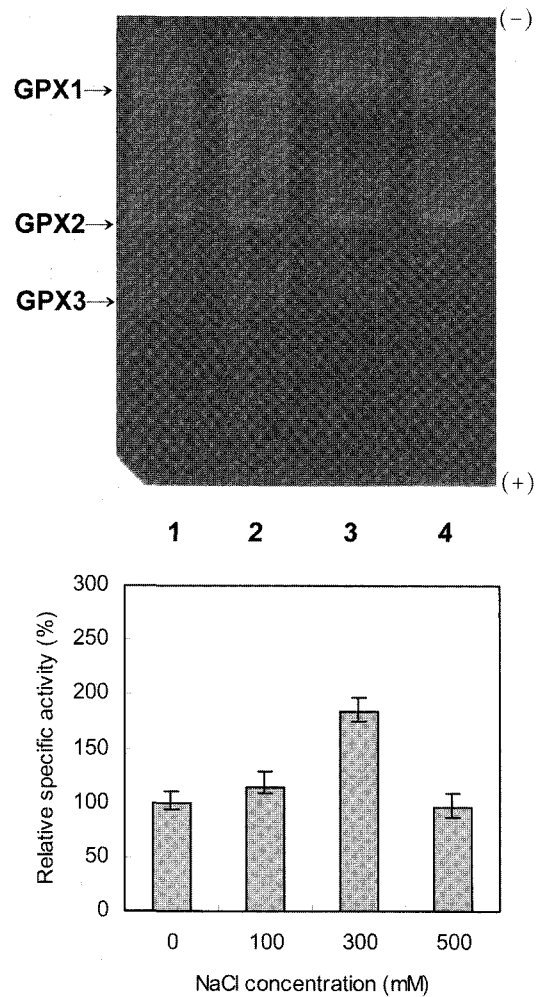


Fig. 4. Alterations of glutathione peroxidase isoenzyme patterns and specific activities in the roots of rice seedlings exposed to NaCl. 1) control; 2) 100 mM NaCl; 3) 300 mM NaCl; 4) 500 mM NaCl.

나, 500 mM NaCl 처리시 크게 감소하였다. 이에 비해 GPX2는 NaCl 농도증가에 따라서 점진적으로 활성이 증가하였다. GPX3는 NaCl 농도증가에 따라 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4).

이상의 결과를 통하여 각종 스트레스 물질에 의한 glutathione peroxidase 동위효소의 차별적 발현패턴 변화를 종합하면, GPX1이 ascorbic acid 등의 환원제 뿐만 아니라 methyl jasmonic acid와 중금속 및 염에 의한 스트레스 반응에 가장 민감하게 반응하여 현저한 활성증가를 나타냈다. 그러나 특이하게도 GPX1 동위효소는 salicylic acid 처리농도가 증가함에 따라 오히려 감소하였다. 이에 비해 GPX2 동위효소는 NaCl 처리에 의해서 활성이 증가한 반면 중금속처리에 의하여 감소하는 경향을 나타냈고 나머지 스트레스 물질에 대해서는 큰 변화를 보이지 않았다.

초 록

동진벼 유묘 뿌리에 환원제인 ascorbic acid, 신호전달물질인 salicylic acid와 methyl jasmonic acid, 중금속인 NiCl_2 와 CuSO_4 및 NaCl를 다양한 농도로 처리한 후 항산화효소인

glutathione peroxidase(GPX)의 활성과 동위효소의 패턴 변화를 살펴보았다. Ascorbic acid 처리에 의한 GPX의 총활성은 ascorbic acid 농도 증가에 의존적으로 증가하였으며 이러한 GPX활성 증가는 GPX1 동위효소의 현저한 활성증가에 기인하였다. GPX는 신호전달물질인 salicylic acid와 methyl jasmonic acid에 대하여 서로 다른 반응성을 보였다. GPX의 활성은 0.1 mM salicylic acid에 의해 증가하였다가 이후 감소하였다. 이에 비해 GPX는 methyl jasmonic acid의 농도증가에 의존하여 점진적으로 증가하여 1 mM methyl jasmonic acid에 의하여 약 3배의 활성증가를 보였다. 뿐만 아니라 GPX1 동위효소는 salicylic acid 농도가 증가할수록 활성이 감소한 반면 methyl jasmonic acid 농도가 증가할수록 현저하게 증가하였다. GPX의 총활성은 NiCl₂ 농도 증가에 따라 점진적으로 증가되었으나, CuSO₄ 처리군의 경우 GPX의 총비활성도는 0.5 mM CuSO₄에 의하여 약 2배 증가한 이후 점차 감소하였다. NiCl₂와 CuSO₄ 처리에 의한 GPX 활성증가도 주로 GPX1 동위효소의 활성증가에 기인하였다. NaCl 처리에 의한 GPX 총활성은 300 mM NaCl 처리군에서 약 1.7배 증가되었다가 이후 감소하였다. 특이하게도 NaCl 농도가 증가함에 따라 GPX2 동위효소 활성이 점차 증가하였다.

Key words: glutathione peroxidase, 스트레스 물질, 총활성, 동위효소 패턴

감사의 글

본 연구는 순천향대학교 (2004년도) 자체학술연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Clijsters, H., Cuypers, A. and Vangronsveld, J. (1999) Physiological responses to heavy metals in higher plants; defense against oxidative stress. *Z. Naturforsch.* **54**, 730-734.
- Sanità di Toppi, L. and Gabbriellini, R. (1999) Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.* **41**, 105-130.
- Salin, M. L. (1987) Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiol. Plantarum* **72**, 681-689.
- Rotruck, J. Y., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. (1973) Selenium Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* **179**, 588-590.
- Esworthy, R. S., Chu, E. F., Geiger, P., Girotti, A. W. and Doroshow, J. R. (1993) Reactivity of plasma glutathione peroxidase with hydroperoxide substrates and glutathione. *Arch. Biochem. Biophys.* **307**, 29-34.
- Yamamoto, Y. and Takahashi, K. (1993) Glutathione peroxidase isolated from plasma reduces phospholipid hydroperoxides. *Arch. Biochem. Biophys.* **305**, 541-545.
- Brigelius-Flohé, R., Aumann, K. D., Blöcker, H., Gross, G., Kiess, M., Klöppel, K. D., Rovert, A., Schuckelt, R., Ursini, F., Wingender, E. and Flohé, L. (1994) Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.* **269**, 7342-7348.
- Kuroda, H., Sagisaka, S. and Chiba, K. (1992) Collapse of peroxide-scavenging systems in apple flower-buds associated with freezing injury. *Plant Cell Physiol.* **33**, 743-750.
- Navari-Izzo, F. and Izzo, R. (1994). Induction of enzyme activities and antioxidant production in barley plants as a result of SO₂ fumigation. *Plant Sci.* **96**, 31-40.
- Dhindsa, R. S. (1994) Drought stress enzymes of glutathione metabolism, oxidation injury and protein synthesis in *Tortula raralis*. *Plant Physiol.* **95**, 648-651.
- Price, N. M. and Harrison, P. J. (1988) Specific selenium containing macromolecules in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Plant Physiol.* **86**, 192-199.
- Tran, I. T., Inoue, Y. and Kimura, A. (1993) Oxidative stress response in yeast: Purification and some properties of a membrane-bound glutathione peroxidase from *Hansenula mrakii*. *Biochem. Biophys. Acta* **1164**, 166-172.
- Sabeh, F., Wright, T. and Norton, S. J. (1993) Purification and characterization of a glutathione peroxidase from the *Aloe vera* plant. *Enzyme Prot.* **47**, 92-98.
- Overbaugh, J. M. and Fall, R. (1985) Characterization of a selenium-independent glutathione peroxidase from *Euglena gracilis*. *Plant Physiol.* **77**, 437-442.
- Yokota, A., Shigeoka, S., Onishi, T. and Kitaoka, S. (1988) Selenium as inducer of glutathione peroxidase in low-CO₂-grown *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* **86**, 649-651.
- Bartling, D., Radzio, R., Steiner, U. and Weiler, E. W. (1993) A glutathione S-transferase with glutathione peroxidase activity from *Arabidopsis thaliana*. *Eur. J. Biochem.* **216**, 579-586.
- Criqui, M. C., Jamer, F., Parmentier, Y., Marbach, J., Durr, A. and Fleck, J. (1992) Isolation and characterization of a plant cDNA showing homology to animal glutathione peroxidases. *Plant Mol. Biol.* **18**, 623-627.
- Holland, D., Ben-Hayyim, G., Paltin, Z., Camoin, L., Strosberg, A. D. and Eshdai, Y. (1993) Molecular characterization of salt-stress associated protein in citrus: Protein and cDNA sequence homology to mammalian glutathione peroxidases. *Plant Mol. Biol.* **21**, 923-927.
- Johnson, R. R., Cruston, H. J., Chaverra, M. E. and Dyer, W. E. (1995) Characterization of cDNA clones for differentially expressed genes in embryos of dormant and nondormant *Avena fatua* L. caryopses. *Plant Mol. Biol.* **28**, 113-122.
- Li, W. J., Feng, H., Fan, J. H., Zhang, R. Q., Zhao, N. M. and Liu, J. Y. (2000) Molecular cloning and expression of a phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase homolog in *Oryza sativa*. *Biochem. Biophys. Acta* **1493**, 225-230.
- Kang, S. G., Jeong, H. K. and Suh, H. S. (2004) Characterization of a new member of the glutathione peroxidase gene family in *Oryza sativa*. *Mol. Cells* **17**, 23-28.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method of the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
- Lin, C. H., Chen, H. J. and Hou, W. C. (2002) Activity staining of glutathione peroxidase after electrophoresis on native and sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gels. *Electrophoresis*

- 23**, 513-516.
25. Foyer, C. H. and Lopez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M. (1997) Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. *Physiol. Plantarum* **100**, 241-254.
26. Doke, N., Miura, Y., Leandro, M. S. and Kawakita, K. (1994) Involvement of superoxide radical in signal transduction: responses to attack by pathogens, physical and chemical shocks and UV irradiation. In CH Foyer, PM Mullineaux, (eds.), Causes of Photo-oxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 177-197.
27. Levine, A., Tenhaken, R., Dixon, R. and Lamb, C. (1994) H₂O₂ from oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* **79**, 583-593.
28. Mehdy, M. C. (1994) Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiol.* **105**, 467-472.
29. Eshdat Y., Holland D., Faltin, Z. and Ben-Hayyim G. (1997) Plant glutathione peroxidases. *Physiol. Plantarum* **100**, 234-240.
30. Ederova, A., Salcheva, G. and Georgieva, D. (1993) Stress damage is related to peroxidase induction in wheat plant. *Plant Peroxidase: Biochemistry and Physiology III International Symposium*, pp. 401-404.
31. Borsani, O., Valpuesta, V. and Botella, M. A. (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedling. *Plant Physiol.* **126**, 1024-1030.
32. Jin, E., Jang M., Ryoo, K. and Lee, M. Y. (2004) Isoperoxidases show differing sensitivity to salicylic acid. *J. Environ. Biol.* **25**, 135-140.
33. Rodriguez Milla, M. A., Maurer, A., Huete, A. R. and Gustafson, J. P. (2003) Glutathione peroxidase genes in Arabidopsis are ubiquitous and regulated by abiotic stresses through diverse signaling pathways. *Plant J.* **36**, 602-615.
34. Agrawal, G. K., Rakwal, R., Jwa, N. S. and Agrawal, V. P. (2002) Effects of signaling molecules, protein phosphatase inhibitors and blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) on the mRNA level of a rice (*Oryza sativa* L.) phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (*OsPHGPX*) gene in seedling leaves. *Gene* **283**, 227-236.