

잎들깨 수량과 단백질체 발현에 미치는 UV-B의 영향

홍성창^{*} · 황선웅¹⁾ · 장안철 · 신평균 · 장병춘 · 이철원²⁾

농업과학기술원 식물영양과, ¹⁾고령지농업연구소 환경보전과, ²⁾충북대학교 농업생명환경대학 식물자원학과
(2006년 1월 5일 접수, 2006년 3월 24일 수리)

Effect of Elevated Ultraviolet-B Radiation on Yield and Differential Expression of Proteome in Perilla (*perilla frutescens* L.)

Seung-Chang Hong^{*}, Seon-Woong Hwang¹⁾, An-Cheol Chang, Pyung-Gyun Shin, Byoung-choon Jang, and Chul-Won Lee²⁾ (National Institute of Agricultural Science and Technology, Plant Nutrition Division, RDA, Suwon 441-707, Korea, ¹⁾National Institute of Highland Agriculture, Environment Management Division, RDA, Pyeongchang 202-955, Korea, ²⁾Department of Crop science, College of Agriculture, Life & Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea)

ABSTRACT: Plastichouse cultivation for crops and vegetables in the winter has been widely popularized in Korea. In the vinylhouse Ultraviolet B penetration is lower than in the field, and so some problems, as plant overgrowth and outbreak of disease, occurred frequently. The effect of artificial supplement ultraviolet B (UV-B:280~320 nm) radiation on the physiological responses and yield of perilla (*perilla frutescens*) was investigated. UV-B ray was radiated on perilla with the 10th leaf stage at the distance of 90, 120 and 150 cm from the plant canopy for 30 days after planting in the vinylhouse. The production of fresh perilla leaves was high in the order of plastic house, ambient+50% of supplemental UV-B, ambient, ambient+100% of supplemental UV-B. Enhanced UV-B radiation affected the intensity of thirty-three proteins in 2-dimensional electrophoretic analysis of proteins and ten proteins out of them seemed to be responsive to UV-B : a protein was, ATP synthase CF1 alpha chain, down regulated and nine proteins (Chlorophyll a/b binding protein type I, Chlorophyll a/b binding protein type II precursor, Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A2, DNA recombination and repair protein recF, Galactinol synthase, S-adenosyl-L-methionine, Heat shock protein 21, Calcium-dependent protein kinase(CDPK)-like, Catalase) were up-regulated.

Key Words: Perilla, UV-B, Yield, Proteom

서 론

오존층 파괴로 현재 지표면의 UV-B 강도는 2~12KJ m⁻²day이며, 이는 1980년대 초의 UV-B량 보다 6~14%가 증가된 것이다¹⁾. UV-B(280~320 nm)에 의해 식물의 영양 생장기관과 생식생장기관의 해부학적 형태가 변화되며 특히 표피, 엽육세포층의 두께를 변화시켜 잎구조가 변화한다. 증가된 UV-B는 엽록소함량을 줄이는 반면 UV-B 흡수화합물을 증가시킨다. 강한 UV-B 처리시 직접적으로 광합성의 광계(photon system)에 영향을 미치거나 간접적으로 광합성색소와 엽면적을 줄여 광합성을 줄이며 대부분의 작물에서 광

합성색소와 광합성의 감소는 생체량과 수량감소를 수반한다²⁾. 또한 UV-B는 광합성능을 저하시키는데 광인산화과정의 광계 II(Photosystem II)의 광합성기구 중 틸라코이드 막이 UV-B에 가장 민감하며³⁾ CO₂를 고정하는 Calvin 회로에서 Rubisco 활성과 재생성을 저하시키는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 들깨는 종실뿐 아니라 신선 잎채소로서의 수요와 재배면적이 증가하고 있으며 전국의 비닐하우스 약 900 ha에서 연간 4만 6천톤 정도를 생산하는 것으로 추산된다⁵⁾. 작물의 비닐하우스 재배시 UV-B의 투과량 감소로 UV-B 조사량이 적고 외기와 차단되어 있는 등 노지와 다른 생육환경 하에서 작물이 생육하게 된다. 본 연구는 UV-B 조사량이 상대적으로 적은 상태인 비닐하우스에서 잎들깨 재배시 UV-B 처리에 따른 잎들깨의 수량성 및 생리변화를 조사하고자 수행하였다.

*연락처:

Tel: +82-31-290-0322 Fax: +82-31-290-0208
E-mail: schong@rda.go.kr

재료 및 방법

잎들깨 재배 및 UV-B 처리

본 연구는 비닐하우스 내의 UV-B 증가에 따른 잎들깨의 수량과 생리반응을 검토하고자 농업과학기술원의 비닐하우스 포장에서 2004년에 수행하였다. 비닐하우스에 plug 육묘한 만주 잎들깨를 4월 27일 재식밀도 12×12cm로 정식한 후 본 엽이 10매 전개된 정식 30일 후부터 30일간 UV-B를 처리하였다. UV-B는 20W 형광램프(Sankyo, F20T10)를 이용하여 잎들깨 초관으로부터 150 cm(노지자연량, 0.6 W/m², 4.32 kJ m⁻² day), 120 cm(노지자연량+50% 증가량, 0.9 W/m², 6.48 kJ m⁻² day) 90 cm(노지자연량+100% 증가량, 1.2 W/m², 8.64 kJ m⁻² day) 높이에서 다른 광의 간섭이 없는 밤 9시부터 1일 2시간씩 처리하였으며 무처리구인 관행 비닐하우스의 1일 UV-B 선량은 4.9 kJ m⁻² day였다. 재배기간 중 잎들깨가 생장함에 따라 주기적으로 형광램프의 높이를 조절하여 균일한 강도의 UV-B가 처리되도록 하였다. 성숙한 잎은 주기적으로 채취하여 수량을 조사하였으며 노지와 비닐하우스 내부의 자연 UV-B선량은 UV-B센서(Skyeinstruments, SKU430)와 네이터로거(Skyeinstruments, SKT660S)를 이용하여 측정하였다. 시험구는 난피법으로 배치하여 수행하였다.

단백질 추출

성숙한 잎을 균일한 부위에서 채취하여 증류수로 세척한 후 막자사발에서 액체질소를 이용하여 분쇄하여 단백질 추출 시료로 사용하였다. 분쇄한 시료 5 g에 단백질 추출 용액 10 ml(15 mM HEPES(pH 7.6), 40 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.1 mM PMSF)을 첨가한 후 1 ml의 4M ammonium sulfate 용액을 첨가한 후 65,000 g로 30분 동안 원심분리하여 상동액에 ammonium sulfate를 첨가하여 침전시킨 후 37,000 g로 30분간 원심분리하여 단백질을 추출하였다. 추출된 단백질은 400 μl의 resuspension buffer(20 mM HEPES(pH 7.6), 40 mM KCl, 1 mM DTT, 0.5 mM PMSF, 0.1 mM EDTA, 10% glycerol)에 녹인 후 500 ml의 dialysis buffer(20 mM HEPES(pH 7.6), 40 mM KCl, 1 mM DTT, 0.5 mM PMSF, 0.1 mM EDTA, 5 mM 2-mercaptoethanol, 10% glycerol)로 4°C에서 염을 제거하였다. 염이 제거된 단백질 시료를 -20°C에서 1시간 동안 TCA/Aceton으로 침전·농축시킨 후 10,000 g로 15분간 원심분리하였다. 농축된 단백질은 7 M urea, 2M Thiourea, 4%(w/v)CHAPS, 1%(w/v)dithiothreitol(DTT), 2%(v/v) pharmalyte, 1 mM benzamidine로 구성된 시료용액에 녹여 단백질전기영동의 시료로 사용하였다. 단백질의 농도 측정은 Bradford법⁶으로 수행하였다.

등전점전기영동과 2차원전기영동

Isoelectric focusing(IEF)를 위하여 IPG strip은 7M urea,

2M thiourea, 2% 3-(3-cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate(CHAPS), 1% dithiothreitol(DTT), 1% pharmalyte로 구성된 재수화 용액으로 상온에서 12시간 재수화했다. Strip 당 단백질 시료는 200 μg을 사용하였으며, Multiphore II system(Amersham Biosciences)을 이용하여 20°C에서 IEF를 수행하였다. IEF 조건은 150V에서 3,500V까지의 도달시간을 3시간 되게 하였으며, 3,500V에서 26시간 지속되도록 하여 최종적으로 96 kWh가 되도록 설정하였다. 이차원전기영동을 수행하기 전에 IPG Strip을 1% DTT를 함유한 equilibration buffer(50 mM Tris-Cl, pH6.8, 6M urea, 2% SDS, 30% glycerol)로 10분간 처리하였으며 2.5% iodoacetamide를 함유한 equilibration buffer로 다시 10분간 처리하였다. Equilibration이 완료된 strip을 SDS-PAGE gel(20×24 cm, 10-16% gradient) 위에 배열시키고 Hoefer DALT 2D system(Amersham Biosciences)을 이용하여 20°C에서 최종적으로 1.7 kWh가 되게 전개하였다. 이차원전기영동이 완료된 이차원젤의 단백질은 은염색으로 시각화하였으며 질량분석기에 의한 단백질 동정을 위하여 glutaraldehyde 처리 단계는 생략되었다. 은염색된 이차원 젤은 스캐닝하여 저장하였다.

이미지분석과 단백질 동정

스캐닝된 이미지로부터 단백질 spot의 발현변화 분석을 위한 정량적인 분석은 PDQuest software(version 7.0, BioRad)를 이용하여 수행하였다. 각 spot의 발현양은 total valid spots의 강도로 평준화(normalization)되었으며, 대조군에 비해 두 배 이상의 유의한 발현변화를 보여주는 단백질 spot을 선정하였다. 단백질 spot은 modified porcine trypsin을 이용하여 작은 단편으로 효소적으로 분해하였다. 젤 조각으로부터 SDS, 유기용매, 염색시약 등의 불순물을 제거하기 위하여 50% acetonitrile로 세척한 후 trypsin(8-10 ng/μl)을 첨가하여 8~10시간동안 37°C에 반응시키고 5 μl의 0.5% trifluoroacetic acid의 첨가하여 단백질 단편을 분해시켰다. Trypsin에 의해 잘려진 단백질 단편들은 수용액 상태로 C18 ZipTip(Millipore)을 이용하여 1~5 μl 부피로 탈염 및 농축하고 농축액은 같은 양의 50% aqueous acetonitrile에 포화된 α-cyano-4-hydroxycinnamic acid와 혼합하여 질량 분석을 위하여 target plate 위에 적재하였다. 질량분석기는 Ettan MALDI-TOF(Amersham Biosciences)를 사용하였다. Target plate 상에 적혀되어 있는 단백질 단편들은 337 nm의 N₂ laser 조사에 의해 기화된 다음 20 Kv injection pulse에 의해 가속되었다. 300 laser shots의 누적 peaks에 의해 각각의 단백질 spot에 대한 mass spectrum을 구하였다. Mass spectrum의 분석을 위해서 trypsin의 자가분해에 의해 생성된 펩타이드의 ion peak m/z(842.510, 2211.1046)를 표준 peaks로 이용하였다⁷. 분석이 완료된 mass spectrum 수치로부터 단백질 동정을 위하여 NCBI(National Center for Biotechnology

Information, USA) Database(<http://www.ncbi.nlm.gov/BLAST>)를 검색하였다.

결과 및 고찰

잎들깨 수량과 일중 자연 UV-B 선량

UV-B 처리에 의한 잎들깨 수량은 표 1과 같다. UV-B 처리 후 잎들깨 수량은 관행인 비닐하우스가 가장 높았고 노지 자연량+50% 증기량 처리구, 노지자연량, 노지자연량 +100% 증기량 처리 순이었다. UV-B에 의한 작물의 생체량은 UV-B 처리량과 매우 밀접한 관련이 있고²⁾. 목화의 경우 노지 자연 상태보다 약한 UV-B 8 kJ m⁻² day 처리시 UV-B 0 kJ m⁻² day에 비교해 생체량에 차이가 없었으나 UV-B 15 kJ m⁻² day 강도 처리에서 0 kJ m⁻² day 처리보다 생체량이 69% 감소하였다⁸⁾고 한다.

표 1에서도 UV-B 저선량(4.9 kJ m⁻² day)상태인 관행의 비닐하우스와 노지자연량, 노지자연량+50% 증기량 처리구간에는 통계적으로 잎들깨 수량에 차이가 없었으나 관행의 비닐하우스에 비해 노지자연량 + 100% 증기량 처리는 수량이 감소하였다.

UV-B의 인위적인 처리로 생체량의 증가나 감소를 면밀히 검토하기 위해서는 노지 자연상태 UV-B의 하루 중 증감 양상과 가깝게 UV-B의 강도와 시간을 조절할 수 있어야 할

것으로 판단된다.

하루종의 자연 UV-B 분포는 그림 1과 같다. 그림 A는 2004년 7월 22일 노지에서 측정한 자연 자외선량으로 일출과 함께 증가하기 시작하여 정오 12시에서 오후 2시 사이의 최고 강도는 0.6 W/m²를 나타냈으며 하루종의 누적 에너지는 13.6 kJ m⁻² day였다. 그림 B는 7월 21일 1층 폐복 비닐 하우스 내에서 측정한 자외선량으로 정오 무렵의 최고강도는 0.25 W/m² 내외였으며 누적에너지는 4.9 kJ m⁻² day로서 폐복비닐에 의해 노지의 UV-B 선량보다 64%가 감소되었다.

발현 단백질 동정 및 기능해석

UV-B 처리에 의한 잎들깨의 발현 단백질 동정을 위해 단백질 2차원 전기영동으로 단백질을 분리한 후 2차원으로 분리된 gel의 이미지분석을 통해 단백질 발현량을 그림 2와 같이 비교 분석하였다. UV-B 저선량인 관행의 비닐하우스와 비교하여 UV-B 처리로 33개의 단백질이 변화되었으며 이중 동정된 10개 단백질은 표 2와 같다.

동정된 단백질을 기능별로 분류하면 광합성과 관련된 것(Spot : 4, 1106, 3104, 3906)이 40%, 스트레스 및 스트레스 방어와 관련된 것(Spot: 204, 1201, 1303, 3001, 3012, 7409) 60% 였다. 이들 동정된 단백질 중 발현량이 감소한 것은 1개(spot 3906)였고 증가한 것은 9개(spot 4, 204, 1106, 1201, 1303, 3001, 3012, 3104, 7409)였다.

Table 1. Changes of production of fresh leaves of perilla with supplemental UV-B

UV-B Treatment	Fresh weight of leaves (kg m ⁻²)				Total
	1st	2nd	3rd	4th	
plastic house	2.2	1.2	1.4	1.1	5.9 a
ambient	2.2	1.2	0.9	0.9	5.2 ab
ambient +50%	2.1	1.3	1.0	1.2	5.6 ab
ambient +100%	1.9	1.2	0.9	0.9	4.9 b

Means with different letters within a column are significantly different at 5% level by DMRT.

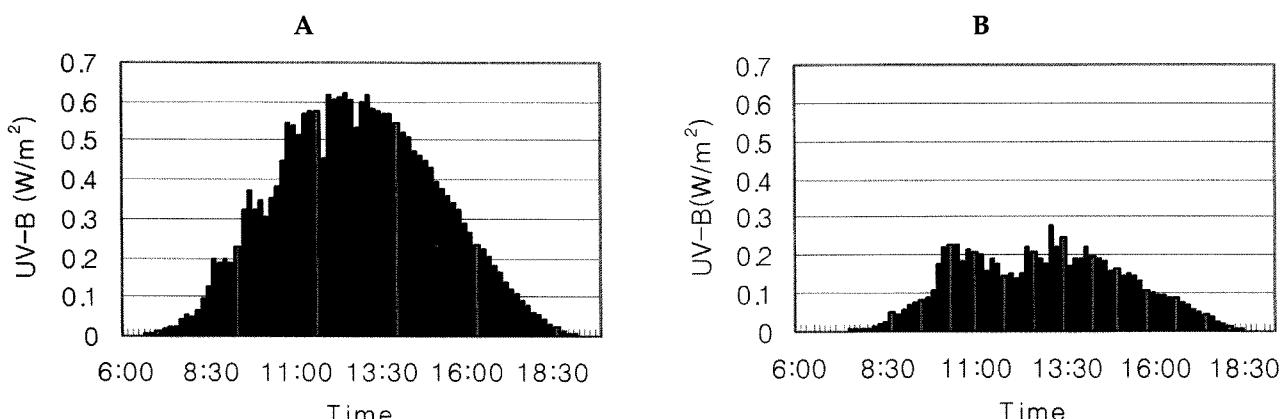


Fig. 1. Diurnal changes of UV-B radiation at cloudless day in the field(A) on July 22 and cloudless day in the plastic house(B) on July 21, 2004.

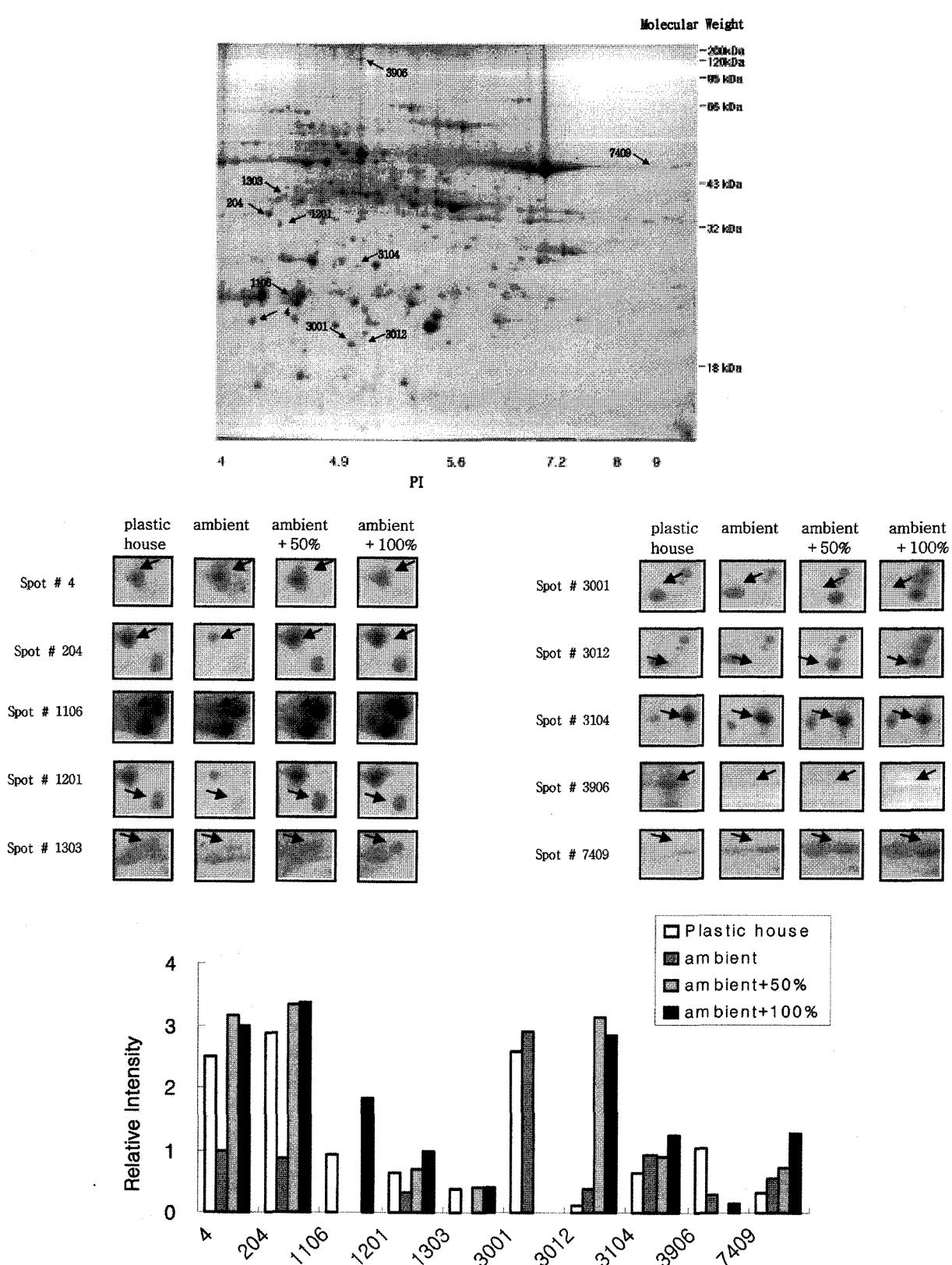


Fig. 2. 2-DE gel pattern obtained using PI 6~9, the gels were visualized by silver staining. The image of protein spots was analyzed using an PDquest of software programme. The large image was the proteome pattern of the untreated control perilla leaves and the arrow spots were changed in a UV-B dependent manner. The image of each changed spot were compared at an increased radiation of UV-B.

Table 2. Identification of proteins from perilla leaves with changed expression levels after UV-B treatment.

Change in expression	Spot ID	Match kDa/PI	Identified Protein	Accession No
Down-regulated	3906	130.6/5.0	ATP synthase CF1 alpha chain	NP043022
	4	22.0/4.2	Chlorophyll a/b binding protein type I	AAF44702
	204	35.5/4.4	DNA recombination and repair protein, recF	ZP00200995
	1106	24.1/4.5	Chlorophyll a/b binding protein type II precursor	82080
	1201	33.2/4.4	Galactinol synthase	4588376
Up-regulated	1303	39.6/4.5	S-adenosyl-L-methionine	15239970
	3001	20.0/5.0	Heat shock protein 21	CABB1417
	3012	20.0/5.0	Calcium-dependent protein Kinase(CDPK)-like	6723407
	3104	27.7/5.0	Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A2	AAR30294
	7409	47.1/8.5	Catalase	NP56412

UV-B 처리로 발현이 감소한 단백질인 ATP synthase CF1 alpha chain(spot 3906)은 엽록체 ATP synthase의 다섯 개의 소단위체 구성요소 중 하나다⁹⁾. 엽록체 ATP synthase는 틸라코이드 막에 존재하는 두개의 기능적 구성물인 CF₀과 CF₁을 가진 복합체로 CF₀는 양성자의 이동통로로 소단위체의 구성, 구조, 기능이 미토콘드리아의 F₀와 유사한 막주변단백질복합체(peripheral membrane protein complex)이며¹⁰⁾ CF₁은 여러개의 막에 고정된 단백질로 ATP 합성장소이다. 본 연구의 UV-B 처리로 ATP synthase CF1 alpha chain은 발현이 감소되어 UV-B 처리로 광합성의 광합성광인산화과정중 ATP의 생성이 저해된 것으로 판단된다.

UV-B 처리로 발현이 증가한 단백질 중 광합성과 관련된 것은 (Spot : 4, 1106, 3104) Chlorophyll a/b binding protein type I, Chlorophyll a/b binding protein type II precursor, Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A2로 식물종류와 UV-B의 강도에 따라 발현이 증가 혹은 감소한다는 상반된 보고들^{11,12)}이 있는데 앞들깨를 대상으로 본 연구에서는 UV-B 조사량 증가에 따라 발현이 증가하였다.

UV-B 처리로 발현이 증가한 단백질중 스트레스 또는 스트레스 방어와 관련된 것은 (spot: 204, 1201, 1303, 3001, 3012, 7409) DNA recombination and repair protein recF, Galactinol synthase, S-adenosyl-L-methionine, Heat shock protein 21, Calcium-dependent protein kinase (CDPK)-like, Catalase 였다.

DNA recombination and repair protein recF(spot 204)는 DNA 결합 단백질로서 원핵생물의 DNA 재조합적 수선(recombinational repair)에 작용하는 단백질로 알려져 있어¹³⁾ UV-B 처리로 앞들깨 세포내 DNA가 손상이 된 것으로 판단된다.

Galactinol synthase(spot1201)는 raffinose, stachyose 등 raffinose family oligosaccharide(RFO)의 생합성 첫 단계를 촉매하고 식물에 흔히 존재하며 저장물질이 아닌 RFO

생합성의 중간물질로서 존재하는데¹⁴⁾ RFO는 냉온, 건조등과 같은 수분스트레스 환경조건하의 식물과 종자 발육단계중 후기 성숙과정 중의 종자의 건조에서 기인하는 스트레스에 대항하는 삼투변동억제제(osmoprotectant)역할을 하는 것으로 알려져 있고¹⁵⁾, Galactinol synthase는 발육중인 종자에서 sucrose와 RFO간의 탄소 분배에 중요한 역할을 할 수 있다고 알려져 있어¹⁶⁾ 추후 UV-B에 의한 발현도 재검토 되어야 할 것으로 생각된다.

S-adenosyl-L-methionine(spot 1303)은 salicylic acid carboxyl methyl기 전이효소(SAMT)로 꽂의 방향성분 생성과 식물 방어에 관여하는 새로운 식물의 methyl기 전이효소로 알려져 있다¹⁷⁾.

HSP(Heat Shock Protein) 발현은 고온스트레스와 정의 상관관계가 있어 HSP들은 고온스트레스로부터 세포를 보호 하며 HSP의 축적은 고온저항성을 증대시키는 것으로 알려져 있다. HSP는 대개 HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60과 HSPs(Small Heat shock proteins, 17~30kD)등 다섯가지로 분류한다¹⁸⁾. HSPs의 기능은 부분적으로 접히고(folding) 변성된(denaturing) 단백질들과 결합하여 분자적 샤파론(molecular chaperone)으로 작용하여 비가역적인 응집을 방지하고 정확한 접힘(folding)이 이루어지도록 하는 것이다¹⁹⁾. 엽록체저분자(chloroplast low molecular weight) HSPs는 고온스트레스 중 광계II(PSII)의 산소 발생 복합단백질(oxygen-evolving complex protein)의 안정성을 유지하는데 직접적인 역할을 하여 PSII의 전자전달을 유지시킨다²⁰⁾. 특히 HSP 21(spot 3001)은 비교적 저수준의 고온스트레스 조건에서 발현되는 것으로 알려져 있다²¹⁾.

Calcium-dependent protein kinase(CDPK)-like(Spot 3012)는 세포내에서 Ca²⁺과 결합하여 신호를 매개하며²²⁾ 한 발, 염류, 상해, 저온, 광과 호르몬들은 식물체 CDPK의 발현과 활성에 영향을 끼치므로 CDPK는 환경스트레스와 호르몬 신호전달에 관여하는 것으로 여겨진다²³⁾.

Catalase(spot 7409)는 superoxide dismutase, peroxidase 와 함께 식물체내 항산화 방어시스템의 중요 효소로 UV-B에 의해 생성된 활성산소를 무해화 시키는 항산화 방어체계에 관여하는 효소인데²⁴⁾ UV-B 강도가 높아짐에 따라 증가하여 UV-B에 의해 산화적 스트레스를 받은 것으로 판단된다.

UV-B 스트레스 환경에서 잎들깨의 생리반응 변화를 단백질체 발현 분석과 세포대사 관련 단백질의 기능해석을 통해 해석할 수 있었는데 이들 단백질정보를 토대로 유전자 발현을 검증한다면 UV-B 증가에 따른 스트레스 지표 단백질 탐색이 용이할 것으로 판단되며, 높은 수준의 UV-B는 잎들깨의 세포내 광합성기구와 DNA를 손상시키고 강한 스트레스로 작용하여 광합성을 저해하고 수량을 감소시킨 것으로 판단된다.

요 약

비닐하우스는 노지보다 UV-B 선량이 적고 외기와 차단되어 노지와 다른 생육환경 하에서 작물이 생육하게 된다. 본 연구는 UV-B 저선량 상태인 비닐하우스 재배 잎들깨에 UV-B를 처리하여 수량과 생리변화를 검토하고자 수행하였다.

UV-B는 형광램프를 이용하여 잎들깨 수관으로부터 150, 120, 90 cm에서 처리하여 각각 노지자연량, 노지자연량+50% 증가량, 노지자연량+100% 증가량을 다른 광의 간섭이 없는 밤 9시부터 2시간씩 30일간 처리하였다. UV-B 처리에 의한 잎들깨 수량은 비닐하우스, 노지 자연량 +50% 증가량, 노지 자연량, 노지자연량+100% 증가량 처리 순이었다. 7월 20일의 자연 UV-B 선량은 노지 13.6 kJ/일, 비닐하우스 4.9 kJ/일로 비닐하우스의 UV-B 선량은 노지보다 64% 감소되는 것으로 측정되었다. UV-B가 균일하게 처리된 잎들깨의 단백질을 추출하여 2차원전기영동으로 분리하고, 이미지분석하여 발현량을 분석한 결과 UV-B에 의해 33개의 단백질 발현이 변화되었으며 이중 10개가 동정되었다. 동정된 단백질의 기능별로 분류하면 광합성과 관련된 것이 40%, 스트레스 및 스트레스 방어와 관련된 것이 60%였다. UV-B에 의해 발현이 감소한 단백질은 광합성과 관련된 ATP synthase CF1 alpha chain이었고 발현이 증가한 단백질은 DNA recombination and repair protein recF, Heat shock protein 21, Catalase, Galactinol synthase, S-adenosyl-L-methionine, Calcium-dependent protein kinase(CDPK)-like 로 주로 스트레스 및 스트레스 방어와 관련된 단백질들로서 UV-B는 잎들깨 세포내 DNA와 광합성기구를 손상시켜 광합성에 저해적으로 작용하여 수량을 감소시킨 것으로 판단되었다.

참고문헌

- UNEP. (2002) Executive summary. Final of UNEP/WMO Scientific assessment of ozone depletion : 2002. Prepared by the scientific assessment panel of the montral protocol on substances that deplete the ozone layer. UNEP. Nairobi (Released 23 August 2002).
- Kakani, V. G., Rebby, K.R., Zhao, D., and Sailaja, K. (2003) Field crop response to Ultraviolet-B radiation : a review. *Agricultural and Forest Meteorology*. 120:191-218.
- Savitch, L.V., Pocock, T., Krol, M., Wilson, K.E., Greenberg, B.M., and Huner, N.P.A. (2001) Effect of growth under UV-A radiation on CO₂ assimilation, Carbon partitioning, PSII photochemistry and resistance to UV-B radiation in *Brassica napus* cv, Topas. *Aust J Plant Physiology*. 28, 203-212,
- Allen, D.J., Nogues, S., and Baker, N.R. (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation is there a real threat to photosynthesis? *J. Exp. Bot* 49, 1775-1788.
- 김순철. (2003) 들깨. 농촌진흥청. 300p., p35.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- 김동수, 박원만. (2004) *Proteomic analysis Protocol. Genomine*.
- Zhao, D., Reddy, K.R., kakani, V.G., Read, J., and Sullivan, J. (2003) Growth and physiological response of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) to elevated carbon dioxide and Ultraviolet-B radiation under controlled environment conditions. *Plant cell environment*, pp 771-782.
- Fritzsche, O. and Junge, W. (1996) Chloroplast ATP synthase, the clutch between proton flow and ATP synthesis is at the interface of subunit δCF1. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1274 : 94-100.
- Nelson, D.L and Cox, M.M. (2002) Lehninger Principles of Biochemistry 3판. 서울 외국서적. p1336. 728~729p.
- Grossman, A.R., Bhaya, D., Apt, K.E., and Kehoe, D.M. (1995) Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis : diversity, control, and evolution. *Annu. Rev. Genet.* 29 : pp. 231-288.
- Lao, K. and Glazer, A. N. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 93 : 5258-5263.
- Paul, L., Angelis, De., Yang, N., and Weigel, P. H. (1995) Molecular cloning of the gene encoding RecF, a DNA repair enzyme, from Streptococcus

- pyogrnies *Gene*. 156:89-91.
14. Marinone, F., and Mureli, Carla. (1999) Galactinol in the leaves of the resurrection plant Boea hygroscopia. *Phytochemistry*. 51:499-505.
 15. Dey, P.M. and Dixon, R.A. (Eds). (1985) Biochemistry of storage carbohydrates D-Galactose containing oligosaccharides in green plants. *Academic press*, New York. 99:53-130.
 16. Saravitz, D.M., Pharr, D.M., and Carter, T.E. (1987) Galactinol synthase activity and soluble sugars in developing seeds of four soybean genotypes. *Plant Physiology*. 83:185-189.
 17. Ross, JR., Nam, K.H., D'Auria, J.C., and Pichersky, E. (1999) S-adenosyl-L-methionine : salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme involved in floral scent production and plant defense, represents a new class of plant methyltransferase. *Arch Biochemical Biophysica* 367:9-16.
 18. Charles, A.K. and David, D.A. (2001) Correlated evolution of chloroplast heat shock protein expression in closely related plant species. *American journal of Botany*. 88:441-418.
 19. Hook, W.A. and Harding, J.J. (1997) Molecular chaperone protect catalase against thermal stress. *European Journal of Biochemistry*. 247:380-385.
 20. Heckathorn, S. A., Sharkey, P.S., and Coleman, J.S. (1998) The small methionine-rich chloroplast heat shock protein protects photosystem II elctron transport during heat stress. *Plant physiology*. 116: 439-444.
 21. Scheel, D. and Wasternack, C. (2002) Plant Signal Transduction. *Oxford University Press*. 324p., p97.
 22. Harmon, A.C., Gribskov, M., Gubrium, E., and Harper, J.F. (2001) The CDPK superfamily of protein kinase. *New Phytology*. 151:175-183.
 23. Cheng, S.H., Willmann, M.R., and Chen, H.C. (2002) Calcium signaling through protein kinase. The Arabidopsis calcium-dependent protein kinase gene family. *Plant physiology*. 129:469-485.
 24. Santos, I., Fialgo, F., Almeida, J.A., and Salema, R. (2004) Biochemical and ultrastructural change in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science*. 167:925-935.
 25. Oh, S.N., Im, H. S., Oh, E. H., Lee, J.H., Kim, J.Y., Mun, J.H., Kim, Y.H., Lee, E.S., Kim, J., and Sul, D.G. (2004) Effects of benzo(a)pyrene of protein expression in Jurkat T-cells. *Proteomics* 4:3514-3526.
 26. Phee, B.K., Cho, J.H., P, S.Y., Jing, J.H., Lee, Y.H., Jeon, J. S., Bhoo, S.H., and Han, T.R. (2004) Proteomic analysis of the response of Arabidopsis chloroplast proteins to high light stress. *Proteomics* 4:3560-3568.