

옥수수 (*Zea mays*) 뿌리의 알데히드 산화효소와 생장에 미치는 텅스텐산 나트륨의 영향

오영주 · 조영준 · 박웅준*

단국대학교 분자생물학과, BK21 RNA전문인력 양성사업팀 & 나노센서바이오테크연구소

Received June 19, 2007 / Accepted July 9, 2007

The Effect of Sodium Tungstate on the Aldehyde Oxidase and the Growth in the Primary Root of Maize (*Zea mays*). Young Joo Oh, Young Jun Cho and Woong June Park*. *Department of Molecular Biology, BK21 Graduate program for RNA Biology, Institute of Nanosensor and Biotechnology, Dankook University, Yongin 448-160, South Korea* – We tested the effect of sodium tungstate, which disturbs the molybdenum cofactor formation, on the activities of aldehyde oxidase(AO) and the growth of maize (*Zea mays*) primary roots. As reported in other plants, sodium tungstate inhibited AO also in the maize root concentration-dependently. The inhibitory effect of sodium tungstate was observed only when the inhibitor was applied to the living plants. Application of tungstate to the extracted protein did not show any effect. Western analysis revealed slightly decreased level of AO protein in the presence of tungstate, indicating a positive feedback of gene regulation by the product. We also tested the effects of tungstate on the root growth. The elongation of primary root and the development of lateral roots, which are sensitive to the absolute level of auxin, were decreased in the presence of sodium tungstate. However, the gravitropic curvature of the primary root, which is dependent on the relative amount of auxin at both sides, was unaffected. These data suggested the decrease of auxin biosynthesis by the application of tungstate. However, the level of free IAA was unaffected by tungstate application. We discuss the possible explanations for the observed results.

Key words – Sodium tungstate, aldehyde oxidase, root, maize (*Zea mays*)

서 론

알데히드 산화효소(aldehyde oxidase, EC 1.2.3.1)는 동식물계에 널리 분포하는 효소로서, 고리(ring)를 포함하는 다양한 알데히드 화합물들과 특정 산화환원 염색약, 옥심(oxime) 등을 산화시킨다[14,10]. 알데히드 산화효소의 활성화에는 몰리브덴 보조인자(cofactor)가 필요하며, 효소 단백질에는 FAD와 non-heme iron이 포함된다. 이 효소는 분자량이 약 150 kDa에 이르는 하부단위(subunit) 두 개가 이량체(dimmer)를 이루며 존재한다. 알데히드 산화효소의 아미노산 서열은 크산틴 탈수소효소(xanthine dehydrogenase)와도 유사하며 계통적으로는 알데히드 산화효소가 크산틴 탈수소효소에서 유래한 것으로 보고되었다[15]. 알데히드를 산화시키는 또 다른 효소로는 알데히드 탈수소효소(aldehyde dehydrogenase)가 있는데 이들의 차이는 알데히드 산화효소의 경우 전자 공여체가 NADH가 아니라 산소(O₂)라는 점이다. 동물의 알데히드 산화효소는 hydrogen peroxide와 superoxide를 모두 생성할 수 있지만[2], 식물의 알데히드 산화효소는 hydrogen peroxide만을 생성하는 것으로 보고되었다[21]. 알데히드 산화효소는 동물의 소장뿐 아니라 간에서도 발견되며, 여러 종류의 독성물질들을 산화시킬 수 있어 해독작용에 기여할 것으

로 생각된다[19]. 그러나, 아직 동물에서 알데히드 산화효소의 기능이 총체적으로 밝혀지지는 않은 상태이다.

식물에서 알데히드 산화효소의 아미노산 서열은 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*)[17], 옥수수(*Z. mays*)[9,16], 보리(*Hordeum vulgare*)[12], 완두(*Pisum sativum*)[22] 벼(*Oryza sativa*)[www.gramene.org] 등에서 알려져 있으며, 현재 제안되어 있는 생리학적인 기능은 식물호르몬인 압시스산(ABA)과 천연 옥신인 IAA (indole-3-acetic acid)의 생합성에서 각각 ABA-aldehyde를 ABA로[17], indole-3-acetylaldehyde를 IAA로 전환시키는 작용이다[1,5]. 이 중 ABA 생합성에 관한 연구는 근자에 애기장대(*A. thaliana*)를 재료로 집중적으로 이루어져 상당한 정보가 축적되었다[17]. 옥신 생합성에서 알데히드 산화효소의 역할에 관한 내용은 이미 오래 전에 제안되었지만 아직 커다란 연구의 진전은 없었다.

알데히드 산화효소의 활성화에는 몰리브덴 보조인자가 필수적으로 요구되므로, 몰리브덴 보조인자의 활성화 정도가 알데히드 산화효소 활성 조절의 수단이 될 수 있다. 실제로 애기장대(*Arabidopsis*)에서는 스트레스에 의한 ABA 생합성의 증가가 알데히드 산화효소의 활성 증가와 관련이 있으며, 이는 다시 몰리브덴 보조인자 활성화에 관여하는 ABA3의 작용에 의한다고 알려져 있다[4]. 텅스텐산(tungstate)을 처리하면 몰리브덴 보조인자의 형성을 방해하여 알데히드 산화효소의 활성을 억제하게 되는데, 애기장대에서는 텅스텐산에 의한 알데히드 산화효소 활성의 감소와 식물체내의 ABA함

*Corresponding author

Tel : +82-31-8005-3129, Fax : +82-2-8005-3191

E-mail : parkwj@dku.edu

량 감소는 서로 상관되어 있는 것으로 보고되었다[7].

본 보고에서는 이미 다른 식물에서 보고된 바와 같이 외부에서 처리한 텅스텐산 나트륨에 의한 알데히드 산화효소의 감소가 옥수수(*Z. mays*) 뿌리에서도 나타나는지 확인한 후에, 주로 옥신과 관련이 있는 뿌리의 성장 반응들이 어떻게 변화하는지 조사하고자 하였으며, 관찰된 결과들을 설명할 수 있는 가능성들을 논의하였다.

재료 및 방법

실험재료

옥수수 (*Zea mays* L. cv Golden Cross Bantam 70) 종자를 1 차 증류수에 2-4 시간 불린 후에 Hetz 등(1996)의 방법[6]을 적용하여 젖은 paper towel에 일렬로 배열하여 동심원으로 감아 세우고, 증류수 또는 처리하고자 하는 약품이 포함된 용액 100 ml에 하루를 담가 28°C에서 3 일간 생장시켰다. 생장 측정은 3일째 되는 시점에 실시하였으며 굴중성 실험에는 2일된 식물의 뿌리를 사용하였다. 단백질 추출 재료로는 3일된 옥수수의 뿌리 끝 1 cm를 채취하였으며 액체 질소로 급속 냉동을 시킨 후 사용할 때까지 -80°C에 보관하였다.

단백질 추출

옥수수의 뿌리를 액체질소 존재 하에 막자 사발을 이용하여 파쇄하였다. 시료를 1.5 ml tube에 담고 500 µl/g.f.w.의 추출용액(50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 10 µM FAD, 1 µM sodium molybdate, 0.5% (v/w) PVP)을 넣고 잘 섞은 다음 원심분리 하였다(17,600 g x 40 min, 4°C). 상청액(supernatant)을 새로운 1.5 ml tube에 옮기고 Bradford 방법(Bio-Rad. USA)으로 단백질을 정량하였다.

Native-PAGE에 의한 단백질 분리와 알데히드 산화효소와 크산틴 탈수소효소 활성의 검출

Native-PAGE는 SDS가 없는 7.5% acrylamide gel을 이용하여 수행하였다. 전기영동 후 activity staining은 Seo et al (1998)[18]의 방법을 따라 수행하였다. Gel을 0.1 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 넣어 5 분간 평형을 이룬 뒤 0.1 mM phenazine methosulfate, 0.4 mM MIT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide), 1 mM ICA (indole-3-carboxaldehyde), 1 mM hypoxanthine이 포함된 0.1 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 담고, 암조건의 실온에서 30 ~ 60 분간 activity staining을 수행하였다.

Western 분석

옥수수 뿌리 끝으로부터 total protein을 추출하여 50 µg을 SDS-PAGE (8%)로 분리한 후 350 mA로 1 시간 동안 Western

transfer unit (Hoefer™ TE-22, Amersham Bioscience, USA)를 이용하여 nitrocellulose membrane (Hybond™-ECL™)으로 transfer하였다. 단백질이 transfer된 membrane을 1 x TST buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.5, 150 mM NaCl, 0.5% Tween 20)로 1 시간 blocking 시켰다. 옥수수 산화효소에 특이적인 anti-peptide antibody(논문 준비중)를 1:2,000으로 1 x TST buffer에 희석하여 1 시간 동안 상온에서 처리한 후 1 x TST buffer로 15 분씩 3 회 세척하였다. 2차 항체(goat anti-rabbit IgG HRP conjugated)를 1:4,000 으로 1 x TST buffer에 희석하여 상온에서 1 시간 이상 처리 후 1 x TST buffer로 15 분씩 3 회 세척하였다. 그 후 ECL-solution으로 암실에서 X-ray film을 현상하여 Western signal을 검출하였다.

뿌리 관찰 및 굴중성 측정

뿌리의 길이는 3일간 키운 옥수수로부터 mm 단위로 측정하였다.

굴중성 측정은 2일된 옥수수의 원뿌리(primary root)를 이용하였다. 어린 옥수수 식물을 수평으로 고정하기 위하여 각각 petridish의 접시와 뚜껑에 대칭되도록 양편으로 원형의 스티로폼을 부착하였으며, 스티로폼 사이에 발아 중인 옥수수의 열매를 넣고 뚜껑을 닫으면 스티로폼에 의해 발생하는 약한 압력에 의하여 옥수수 전체가 고정되도록 고안하였다. 각각 petridish 내분에는 수분에 적신 종이수건을 넣어두고, 전체 petridish를 틀에 고정된 후 물이 담긴 용기에 넣어 측정기간 동안 상대습도가 포화되도록 유지하였다. 측정 시작 시점까지는 식물체를 수직으로 유지하다가 일체화 수평으로 배치하였고, 매 시간 디지털 영상측정 장치로 촬영하여 IPro™ 프로그램(Sometech, Korea)으로 각도를 측정하였다. 각도는 최초 수평 위치를 180°로 표시하였으며 중력방향을 90°로 표시하여 굽어지는 정도를 표시하였다.

HPLC를 이용한 IAA 측정

IAA 측정은 기본적으로 Kim 등(2005)[8]의 방법을 따랐다. 옥수수 뿌리 끝 1 cm 부위를 절단하여 internal standard로 indole-3-propionic acid (IPA)를 가한 후(10 nm/g.f.w.) 막자사발을 이용하여 100% 메탄올로 추출하였다. 세포 잔유물을 원심분리하여(16,000 g x 10 min, 4°C) 제거하고 상청액을 새로운 용기에 옮겨 감압 건조하여 농축하였다. 농축한 시료를 10% 메탄올 1ml에 희석한 다음 C18 cartridge에 loading하고, 20% 메탄올 1ml로 세척한 후 70% 메탄올 1ml로 용리하였다. pH를 낮게 유지하기 위하여 상기한 모든 용액에는 0.3% 초산을 포함시켜 사용하였다. C18 cartridge를 통해 얻은 시료 중 일부를 역상인 RP-C18 column (Apollo C18, 5 µm, Alltech, USA)을 장착한 HPLC system (Waters 600E)으로 분석하였으며, 아세토니트릴을 이용하여 isocratic 조건에서 용리하였다 (용액 A: 0.3% 초산이 포함된 10% 메

탄을 용액, C: 100% 아세트나트릴 용액; 0-25분: A용액 30%, C용액 70%). 용리되는 IAA와 IPA는 emission 360 nm의 형광(excitation at 282 nm)을 fluorescence detector (Waters 470)를 이용하여 추적하였으며, 표준 시약과 비교하여 그 위치를 확인하였다.

결과 및 고찰

텡스텐산 나트륨이 알데히드 산화효소의 활성에 미치는 영향

알데히드 산화효소 억제제로 알려져 있는 텡스텐산 나트륨[7]을 옥수수가 발아하여 성장하는 3일간 농도 별로 처리하였다(Fig. 1). Native-PAGE로 단백질을 분리한 후 indole-3-carboxyaldehyde를 기질로 사용하여 zymogram으로 검출한 알데히드 산화효소의 활성[19]은 텡스텐산 나트륨의 농도가 0.01 mM 이상이 되면 현저히 감소하여 0.3 mM 이상에서는 거의 나타나지 않았다. 따라서 고농도의 텡스텐산 나트륨 처리를 통하여 옥신 등 식물호르몬의 함량 변화를 유도할 수 있을 것으로 생각되었다.

텡스텐산 나트륨에 의한 알데히드 산화효소 활성의 감소는 성장시기에 몰리브덴산 나트륨을 동시에 처리하면 방지되었다(Fig. 2A). 이는 텡스텐산 이온에 의한 몰리브덴 보조인자 형성 저하가, 풍부한 몰리브덴산 공급에 의하여 회복되었기 때문인 것으로 판단된다. 몰리브덴산 나트륨을 단독으로 옥수수 유식물에 처리한 경우에는 알데히드 산화효소 활성에 변화가 없어 몰리브덴산 그 자체로 알데히드 산화효소의 활성을 촉진하지는 않는 것으로 파악되었다(Fig. 2A). 몰리브덴 보조인자를 요구하는 크산틴 탈수소효소의 활성도 알데히드 산화효소와 마찬가지로 텡스텐산 나트륨에 의하여 억제되었다.

그런데, 알데히드 산화효소와 크산틴 탈수소효소에 대한 텡스텐산 나트륨의 억제효과는 식물체에 직접 처리하여 키운 경우에만 나타났으며(Fig. 2A), 식물 재료를 채취한 후 단백질 추출 시에 시험관 내에서만 처리한 경우에는 억제효과가 없었다(Fig. 2B). 이는 몰리브덴 보조인자 형성 및 활성화

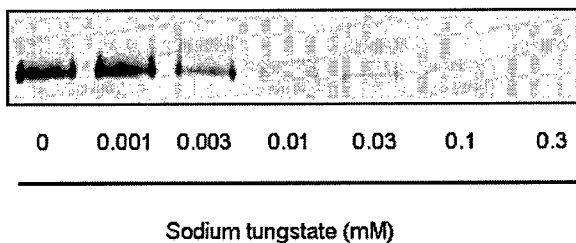


Fig. 1. Effect of sodium tungstate on the activities of aldehyde oxidases in the maize primary root tip. The enzyme activities were revealed by zymogram with indole-3-carboxyaldehyde as the substrate.

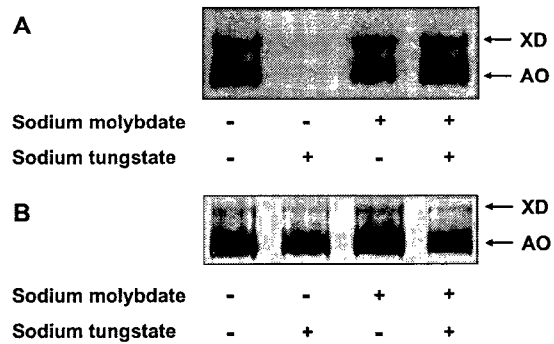


Fig. 2. Differences in the effects of sodium tungstate and sodium molybdate on the activities of aldehyde oxidases and xanthine dehydrogenases, when it was applied to the growing plants (A) and to the extracted proteins (B). Concentration of both substances were 0.1 mM.

에 관여하는 ABA3[4]와 같은 다른 효소들이 본 실험에 사용된 단백질 추출 및 반응 조건에서 작용하지 못하기 때문일 것으로 판단된다.

텡스텐산 나트륨이 알데히드 산화효소 단백질 함량에 미치는 영향

발아 및 성장중인 옥수수 유식물에 0.1 mM의 텡스텐산 나트륨을 처리하여 알데히드 산화효소의 활성 억제효과를 검출한 후(Fig. 3A), 동일한 조건에서 알데히드 산화효소의 단백질 함량 변화를 Western 분석으로 조사하였다(Fig. 3B). 그 결과 텡스텐산 나트륨에 의하여 알데히드 산화효소의 함량이 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3B). 동일한 단백질 시료에서 대조군으로 조사한 옥수수 nitrilase ZmNIT2의 함량에

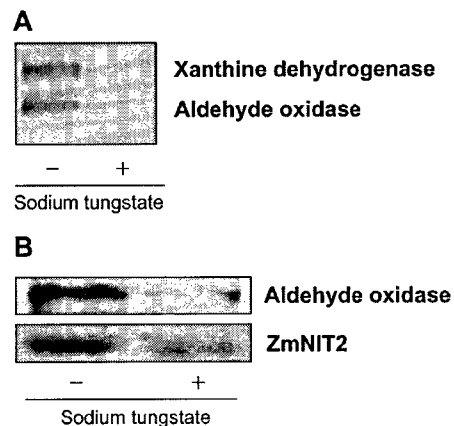


Fig. 3. Influences of sodium tungstate on the activities (A) and protein contents (B) of aldehyde oxidases. The activities were revealed by zymogram, and the protein contents were examined by Western analysis using anti-peptide antibody that is specific to maize aldehyde oxidases. The maize nitrilase ZmNIT2 was examined in parallel by Western as a control.

는 변화가 없었으므로 텡스텐산 나트륨에 의한 알데히드 산화효소의 감소는 일반적인 단백질 함량에 감소에 의한 것은 아니었다.

알데히드 산화효소의 활성에 대한 텡스텐산 나트륨의 억제효과는 몰리브덴 보조인자 형성을 방해하여 활성화를 저해하는 데에 기인하므로, 텡스텐산이 알데히드 산화효소의 유전자 발현에 직접적으로 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 오히려, 그 보다는 알데히드 산화효소의 작용에 의하여 생성되는 반응 산물이 알데히드 산화효소의 유전자 발현에 일종의 양성 되먹임(positive feedback) 조절 작용을 할 가능성이 있을 것으로 추정된다.

텡스텐산 나트륨이 옥수수 뿌리의 신장과 굴중성 반응에 미치는 영향

텡스텐산 나트륨을 옥수수 유식물에 3일간 처리하여 원뿌리(primary root)의 신장을 조사하였다(Fig. 4). 그 결과 텡스텐산 나트륨의 알데히드 산화효소의 활성을 현저히 억제하는 10⁻⁴ M 이상이 되면 원뿌리의 길이가 감소하였다. 일부 유식물의 경우에는 10⁻⁵ M 텡스텐산 나트륨에 의하여 길이가 증가하는 것처럼 보였지만 반복된 측정에서 통계적인 유의성이 인정되지 않았다(p=0.6603). 일반적으로 뿌리의 신장(elongation)은 옥신에 의하여 억제되므로 텡스텐산 나트륨이 옥신 함량을 감소시킨다면 뿌리의 신장이 증가할 것으로 예측할 수 있는데, 본 실험에서는 뿌리 신장의 증가를 관찰할 수 없었다. 오히려 고농도의 텡스텐산 나트륨 존재 하에서는 뿌리의 생장이 억제되므로 뿌리의 성장에도 옥신이 어느 정도는 요구되는 것으로 사료된다. 발아시켜 6일간 키운 옥수수의 원뿌리에서 발생하는 곁뿌리(lateral root)의 발생 빈도도 텡스텐산 나트륨 존재 하에 감소하였는데(Fig. 5, Table 1), 옥신이 곁뿌리의 발생을 유도한다는 것은 이미 잘 알려진 사실[20]이다. 이상에서 관찰한 옥수수 원뿌리의 신장과 곁뿌리의 발생 빈도 변화는 모두 옥신 함량에 의하여 영향을 받는 반응들이다. 그러므로 텡스텐산 나트륨에 의하여 옥신 함량이 감소한다면 그에 따라 관찰된 뿌리의 반응이

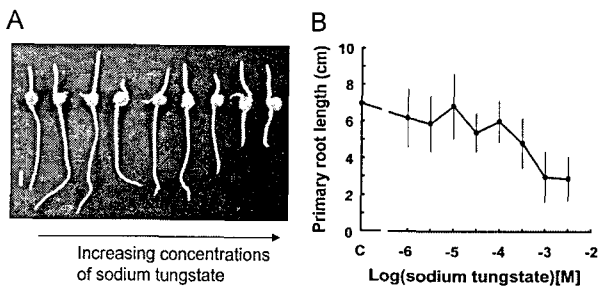


Fig. 4. Primary root growth in the presence of increasing concentrations of sodium tungstate. The changes in the length (A) were measured and plotted (B). Vertical bars indicate the standard deviations.

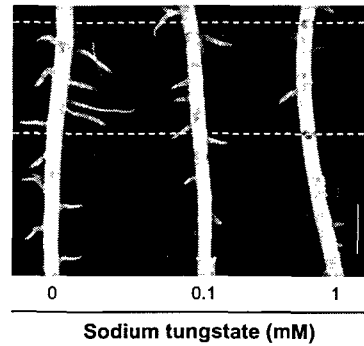


Fig. 5. Frequencies of lateral root development in 6-day-old maize. The lateral roots growing out from the primary root were counted below the kernels between 1 and 2 cm (between the dashed lines). Vertical bar indicates 1 cm.

Table 1. Frequencies of lateral roots in the absence and presence of sodium tungstate. Data are presented as M ± SD

Sodium tungstate (mM)	Number of lateral roots / cm	t-test
0.0	9.6±2.8	-
0.1	6.7±2.1	p = 0.0171
1.0	5.3±2.8	p = 0.0109

나타날 수 있을 것으로 생각되었다.

옥신과 연관된 대표적인 생리반응 중의 하나인 굴중성(gravitropism) 반응도 조사하였다(Fig. 6). 발아 후 2일된 옥수수 유식물을 수평으로 고정하여 5시간 동안 1시간 간격으로 원뿌리의 각도 변화를 측정하였다. 그 결과 실험에 사용한 0.01 - 1 mM 텡스텐산 나트륨의 농도 범위에서 유의한 차이가 나타나지 않아 (일부 결과만 Fig. 6에 제시) 텡스텐 이온의 처리는 굴중성 반응에 영향을 미치지 않는다는 결론을 얻었다. 굴중성 반응은 옥신의 절대치가 아닌 양측의 상대치에 의존하는 반응[3]이다.

텡스텐산 나트륨 처리와 옥수수 뿌리의 free IAA 함량과의 관계

텡스텐산 나트륨 처리시 옥수수 뿌리의 변화를 관찰한 결과 절대함량에 영향을 받는 반응들이 영향을 받고, 상대적인 양에 의존하는 반응은 영향을 받지 않으므로, 텡스텐산 나트륨 처리에 의하여 free IAA의 함량에 변화가 있는지 측정하였다(Fig. 7). 뿌리 끝 1 cm로부터 IAA를 추출하고 reverse-phase C18 column을 장착한 HPLC system으로 부분 정제된 옥수수 뿌리의 메탄올 추출물을 분획하여 인돌기(indole group)에서 발생하는 형광을 이용하여 360 nm의 emission을 추적한 결과, 텡스텐산 처리는 옥수수 뿌리의 free IAA 함량에는 영향을 미치지 않았다. IAA immunoassay detection kit (Phytdotetek)을 이용하여 옥수수의 뿌리

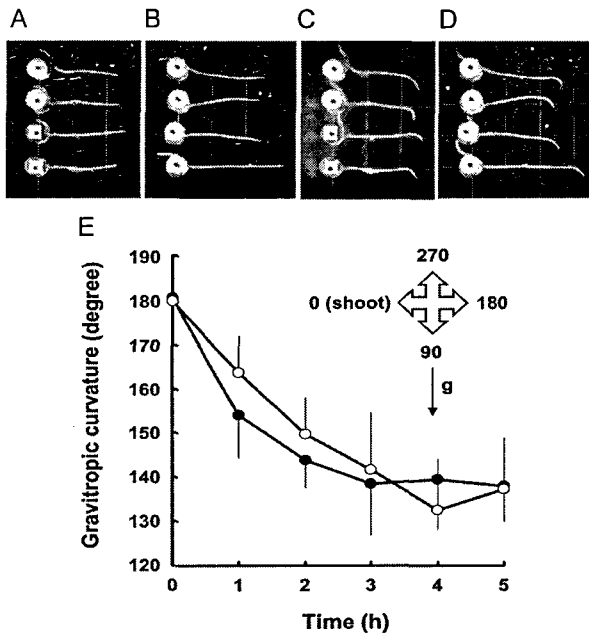


Fig. 6. Gravitropic curvature of the maize primary root in the absence and presence of sodium tungstate. The shape of maize roots at the start (A) and after 3 hours (B). The curvature of the roots was measured in the presence of 0.01 mM, 0.1 mM, and 1 mM. For clarity only the values for 1.0 mM sodium tungstate-treated samples (open circles) were plotted together with control (closed circles). Bars indicate the standard deviations.

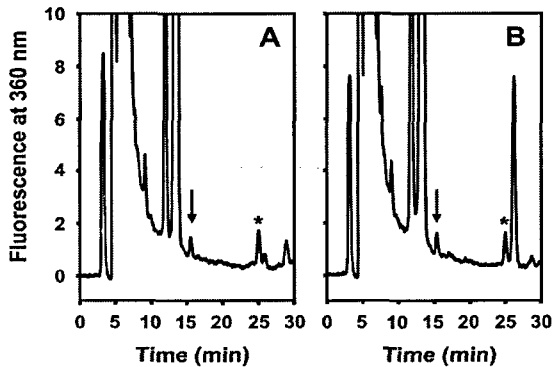


Fig. 7. Elution profiles of endogenous IAA from HPLC. IAA (arrows) from control (A) and 0.1 mM sodium tungstate-treated roots (B) was resolved on a RP-C₁₈ column in the presence of applied indole-3-propionic acid (asterisks) as the internal standard.

끝에 존재하는 free IAA의 양을 측정할 경우에도 대조구에서는 125.7 ± 66.9 pmol/gram fresh weight, 0.1 mM 텡스텐산 나트륨 처리구에서는 247.5 ± 149.4 pmol/gram fresh weight로 나타나 별다른 차이를 인정할 수 없었다.

관찰된 뿌리의 변화로부터 예측한 바와 달리 텡스텐산 나트륨에 의한 free IAA의 함량변화는 측정되지 않았다. 그렇

지만, 옥신에 의한 생장과 발달의 조절에는 일반적인 옥신 함량의 변화가 아니라 부분적인 옥신 함량의 기울기가 중요한 것으로 사료되며, 본 측정에서는 특정 세포층의 옥신 함량이 아닌 뿌리 정단의 모든 세포층을 측정 대상으로 하였으므로 미세한 변화들이 감지되지 않은 것으로 생각된다. 특히 옥신의 함량 조절에는 강력한 항상성 기작이 작용하고 있으므로 [11] free IAA의 함량 유의한 변화는 측정되지 않은 것으로 판단된다. 따라서, 텡스텐산 나트륨에 의하여 알데히드 산화효소가 억제될 경우 옥신 공급원 세포의 옥신 생합성이 감소하여 특정 세포층의 옥신 반응이 변화되는 상황에서도 conjugation의 분해나 nitrilase[13]를 통한 IAA 합성 증가 등 항상성 기작이 작용하여 뿌리 정단 전체를 기준으로 볼 때 free IAA pool이 유지된 것으로 추정할 수 있다. 이러한 이유로 단순한 free IAA 함량 측정이 아닌, conjugation의 형태 변화와 분해, 수송의 영향, nitrilase에 의한 생합성 등을 포괄적으로 분석하는 대사체학(metabolomics)적 연구에 의하여 텡스텐산 나트륨이 옥수수 뿌리의 성장 변화에 미치는 영향이 다시 한 번 정밀하게 검증되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

폴리브덴 보조인자 형성을 방해하는 텡스텐산 나트륨이 옥수수 뿌리에서 알데히드 산화효소의 활성과 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 다른 식물에서 보고된 바와 같이 옥수수 뿌리에서도 텡스텐산 나트륨은 그 농도가 증가됨에 따라 알데히드 산화효소의 활성을 억제하였는데, 억제 활성은 식물체에 직접 처리한 경우에만 나타나고 추출된 효소에 처리하였을 때에는 효과가 없었다. 텡스텐산은 알데히드 산화효소의 활성화를 억제하는 물질임에도 불구하고, Western 분석에 의하면 알데히드 산화효소 단백질의 함량을 감소시키는 것으로 나타나 반응산물이 효소함량을 증가시키는 양성 되먹임 조절관계를 나타내었다. 텡스텐산 나트륨은 효소 활성을 억제하는 농도에서 옥수수 원뿌리의 생장과 결뿌리 발생을 억제하였지만 굴중성 반응에는 영향이 없었다. 전자의 두 반응은 옥신 절대함량에 의존하고 후자는 상대량에 의존하므로 텡스텐산 나트륨에 의한 옥신 함량 변화로 관찰된 결과들의 설명이 가능할 것으로 사료되었다. 그러나 뿌리의 free IAA의 함량 변화는 검출되지 않았다. 옥신 함량 조절에는 강력한 항상성 기작이 관여하므로 IAA conjugate 분해와 nitrilase에 의한 생합성 증가 등 결과 설명에 적용 가능한 내용들을 논의하였다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음 (KRF-2004-015-C00535).

참 고 문 헌

1. Akaba, S., M. Seo, N. Dohmae, K. Takio, H. Sekimoto, Y. Kamiya, N. Furuya, T. Komano and T. Koshiba. 1999. Production of homo- and hetero-dimeric isozymes from two aldehyde oxidase genes of *Arabidopsis thaliana*. *J. Biochem.* **126**, 395-401.
2. Badwey, J. A., J. M. Robinson, M. J. Karnovsky and M. L. Karnovsky. 1981. Superoxide production by an unusual aldehyde oxidase in guinea pig granulocyte. Characterization and cytochemical localization. *J. Biol. Chem.* **256**, 3479-3486.
3. Barker-Bridgers, M., D. M. Ribnicky, J. D. Cohen and A. M. Jones. 1998. Red-light-regulated growth: Changes in the abundance of indoleacetic acid in the maize (*Zea mays* L.) mesocotyl. *Planta* **204**, 207-211.
4. Bittner, B., M. Oreb and R. R. Mendel (2001) ABA3 is a molybdenum cofactor sulfuryase required for activation of aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*, *J. Biol. Chem.* **276**. 40381-40384.
5. Bower, P. J., H. M. Brown and W. K. Purves. 1978. Cucumber seedling indoleacetaldehyde oxidase. *Plant Physiol.* **61**, 107-110.
6. Hetz, W, F. Hochholdinger, M. Schwall and G. Feix. 1996. Isolation and characterization of *rtcs*, a maize mutant deficient in the formation of nodal roots. *Plant J.* **10**, 845-857.
7. Jiang, X. Y., R. T. Omarov, S. Z. Yesbergenova and M. Sagi. 2004. The effect of molybdate and tungstate in the growth medium on abscisic acid content and the Mo-hydroxylases activities in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Sci.* **167**, 297-304.
8. Kim, Y. J., Y. J. Oh and W. J. Park. 2006. HPLC-based quantification of indole-3-acetic acid in the primary root tip of maize. *J. Nano & Bio Tech.* **3**, 40-45.
9. Koshiba, T., E. Saito, N. Ono, N. Yamamoto and M. Sato. 1996. Purification and properties of flavin- and molybdenum-containing aldehyde oxidase from coleoptiles of maize. *Plant Physiol.* **110**, 781-789.
10. Mendel, R. R. and F. Bittner. 2006. Cell biology of molybdenum. *Biochimica. Biophysica. Acta.* **1763**, 621-635.
11. Normanly, J. 1997. Auxin Metabolism. *Physiol. Plant* **100**, 431-442.
12. Omarov, R. T., S. Akaba, T. Koshiba and S. H. Lips. 1999. Aldehyde oxidase in roots, leaves and seeds of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Exp. Bot.* **50**, 63-69.
13. Park, W. J., V. Kriechbaumer, A. Mueller, M. Piotrowski, R. B. Meeley, A. Gierl, E. Glawischnig. 2003. The nitrilase ZmNIT2 converts indole-3-acetonitrile to indole-3-acetic acid. *Plant Physiol.* **133**, 794-802.
14. Rajagopalan, K. V. and P. Handler. 1966. Aldehyde oxidase. *Methods Enzymol.* **9**, 364-368.
15. Rodriguez-Trelles, F., R. Tarrío and F. J. Ayala. 2003. Convergence neofunctionalization by positive Darwinian selection after ancient recurrent duplications of the xanthine dehydrogenase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 13413-13417.
16. Sekimoto, H., M. Seo, N. Dohmae, K. Takio, Y. Kamiya and T. Koshiba. 1997. Cloning and molecular characterization of plant aldehyde oxidase. *J. Biol. Chem.* **272**, 15280-15285.
17. Seo, M. and T. Koshiba. 2002. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci.* **7**, 41-48.
18. Seo, M., A. J. M. Peeters, H. Koiwai, T. Oritani, A. Marion-Poll, J. A. Zeevart, M. Koornneef, Y. Kamiya and T. Koshiba. 2000. The *Arabidopsis* aldehyde oxidase 3 (AAO3) gene product catalyzes the final step in abscisic acid biosynthesis in leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 12908-12913.
19. Shaw, S. and E. Jayatilake. 1990. The role of aldehyde oxidase in ethanol-induced hepatic lipid peroxidation in the rat. *Biochem. J.* **268**, 579-583.
20. van der Zaal, B. J., L. W. Neuteboom, J. E. Pinas, A. N. Chardonens, H. Schat, J. A. Verkleij and P. J. Hooykaas. 1999. Overexpression of a novel *Arabidopsis* gene related to putative zinc-transporter genes from animals can lead to enhanced zinc resistance and accumulation. *Plant Mol. Biol.* **39**, 273-287.
21. Yesbergenova, Z., G. Yang, E. Oron, D. Soffer, R. Fluhr and M. Sagi. 2005. The plant Mo-hydroxylases aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase have distinct reactive oxygen species signatures and are induced by drought and abscisic acid. *Plant J.* **42**, 862-876.
22. Zdnek-Zastocka, E., R. T. Omarov, T. Koshiba and H. S. Lips. 2004. Activity and protein level of AO isoforms in pea plants (*Pisum sativum* L.) during vegetative development and in response to stress conditions. *J. Exp. Bot.* **55**, 1361-1369.