

Physiological Characterization of an AtPGR from Arabidopsis Involved in Pathogen Resistance

Moon-Soo Chung and Cheol Soo Kim*

Department of Plant Biotechnology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Received July 20, 2011 / Revised August 30, 2011 / Accepted August 30, 2011

The *AtPGR* gene is induced by pathogen infection, jasmonic acid and salicylic acid treatment and may therefore play a role in plant defense responses. *Arabidopsis thaliana* Plasma membrane Glucose-responsive Regulator (*AtPGR*) was previously isolated from *Arabidopsis*, which confers glucose insensitivity on plants. To study its biological functions directly, we have characterized both loss-of-function RNAi mutant and gain-of-function transgenic overexpression plants for *AtPGR* in *Arabidopsis*. The *AtPGR*-overexpressing plants displayed enhanced resistance to a virulent strain of the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* as measured by a significant decrease in both bacterial growth and symptom development as compared to those in wild-type and RNAi plants. The enhanced resistance in the gain-of-function transgenic plants was associated with increased induction of SA-regulated *PDF1.2* and JA-regulated *PR1* by the bacterial pathogen. Thus, pathogen-induced *AtPGR* plays a positive role in defense responses to *P. syringae*.

Key words : *AtPGR*, glucose, jasmonic acid, pathogen, salicylic acid

서 론

식물체는 이동할 수 없는 고착 생물이기 때문에 가뭄 및 저온과 같은 비생물학적 스트레스 요인뿐만 아니라 병원균과 같은 생물학적 스트레스 요인들에 의해서도 식물 성장 및 작물의 생산에 큰 영향을 받고 있다. 병원균들에 대한 식물체의 저항성은 세포 내 지속적으로 존재하는 물질 혹은 유도 물질에 의해 발생하는 다양한 식물 방어 기작을 통하여 조절되어진다[8]. 특히 당 신호 전달은 식물 성장 및 발달 등에 매우 중요하며[21], 세포 내의 여러 대사 작용을 조절할 수 있는 중요한 요소이지만, 박테리아, 효모 및 동물과는 달리 식물체 내에서 당 신호전달과 관련된 연구결과는 매우 적다.

애기장대에서 monosaccharide transporter (MST) family는 26개 이상의 유전자가 존재하며, 이러한 transporter들은 에너지를 이용하는 H⁺symporter로 작용한다[2]. *MST1*과 같은 일부 유전자는 담배에서 sink 조직에 특이적으로 존재한다고 보고되었다[23]. *MST* promoter 분석을 통하여, *MST* 유전자들이 스트레스 반응에 대하여 다양한 신호전달에 의해 조절된다는 것을 제안하였고, *MST*는 주로 식물체의 상해와 병원균의 침입에 의하여 조절되는 것으로 보인다[25]. 특히 sugar transporter protein 4 (*STP4*)는 *Pseudomonas syringae* 또는 chitin 처리 및 균류 침입 시 발현이 유도된다[25]. 최근에 extracellular invertase와 sugar transporter (*STP*)에 의하여 병원

균 방어 기작에서의 탄수화물 대사 작용 중요성이 입증 되어졌으며[1,25], 이 결과는 당의 생성이나 흡수는 식물의 방어기작을 활성화하는데 중요한 요인으로 작용함을 의미한다. 식물체에서의 병원균 감염은 식물 세포와 병원균 세포가 서로 이용할 수 있는 영양분과 사용 가능한 탄수화물 대사물질들에 대하여 서로 경쟁하며, 병원균의 감염은 glucose 함량을 증가시킬 수 있는 extracellular invertase 효소를 활성화 시킨다는 연구가 보고된 바 있다[4]. 이러한 결과는 활물기생균과 사물기생균, 박테리아 및 바이러스와 같은 다양한 식물 병원균의 감염에 의한 분석을 통해 보고되어 졌으며[11,12], 또한 애기장대의 regulator of G signaling protein (*RGS1*)은 heterotrimeric G protein complex를 형성하여 abscisic acid 신호전달과정, 생물학적 또는 비생물학적 스트레스에 대한 내성 유도, 종자 발아와 유식물체 발달 및 glucose 신호전달과정에 관여하며[6,9,10,26], heterotrimeric G-protein signaling 돌연변이체들은 고농도의 당 처리에 의하여 종자 발아 및 묘목 성장에서 저해되고, 또한 병원균의 저항성에 대해서도 영향을 나타낸다[13].

Salicylic acid (SA)는 활물기생균에 대한 일차신호전달물질로 작용하는 반면, jasmonic acid (JA)는 사물기생균의 감염에 의하여 활성화되는 일차신호전달물질로 이용된다[17]. 활물기생균의 감염은 초과민 반응을 유도하며, 병원균에 의한 초과민 반응은 SA 의존적 방어 기작인 systemic acquired resistance (SAR)을 갖게 한다[5]. SAR은 식물체 내의 SA의 증가에 의하여 유도되어지며, 병원균 관련 유전자인 *PATHOGENESIS-RELATED 1 (PR1)* 등의 전사를 활성화하여 병원균으로부터 보호한다[22]. JA는 *Botrytis cinerea*와 같은 사물기생균의 대하

*Corresponding author

Tel : +82-62-530-2182, Fax : +82-62-530-2079

E-mail : cskim626@chonnam.ac.kr

여 방어 반응을 유도하는 신호전달물질이며[7], 애기장대에서 JA와 관련된 신호전달이나 생합성 돌연변이체들은 사물기생 균인 *B. cinerea*와 *Alternaria brassicicola*에 대하여 감수성이 증가한다고 보고되어져 왔다[19]. 이러한 병원균은 JA의 신호전달과정에 관여하는 식물 방어 유전자인 *PLANT DEFENSIN 1.2 (PDF1.2)*와 *THIONIN 2.1 (Thi2.1)*의 발현을 증가시킨다[20]. 또한, 최근에 식물의 신호전달체계에서 SA 신호전달과정과 JA 신호전달과정이 서로 상반되는 관계를 나타낸다고 보고하고 있다[15].

최근에 원형질막에 존재하는 *Arabidopsis thaliana Plasma membrane Glucose-responsive Regulator (AtPGR)* 유전자는 glucose 반응에 대한 조절인자로 보고하였다[3]. 본 연구를 통하여, *AtPGR* 유전자가 병원균 처리에 의하여 발현양이 증가함을 확인하였고, 과발현 및 RNAi 형질전환체를 이용하여 병저항성을 살펴본 결과, *AtPGR* 유전자의 과발현 형질전환체들은 병원균에 대해 저항성을 유도함을 알 수 있었다.

재료 및 방법

식물 재료 및 생육 조건

Glucose, 식물 호르몬 및 병원균 처리 후, 표현형 관찰과 유전자 발현 양상을 확인하기 위하여, 애기장대(*Arabidopsis thaliana*, ecotype Col-O), *AtPGR* 과발현 형질전환체 (35S::AtPGR), RNAi 형질전환체 (*atpgr* RNAi) 및 *AtPGR* promoter-beta-glucuronidase (GUS) 형질전환체들을 사용하였고 [3], 종자는 70% 에탄올로 1분, 2% sodium hypochlorite 용액으로 10분간 살균한 다음 멸균수로 5회 충분히 세정한 후, 4°C에서 암상태로 2일간 저온 처리하여 Murashige and Skoog (MS) 식물 배지[18]와 배양토(상토:질석:펄라이트=2:1:1)에 과종하였다. 식물 생장 조절실내의 환경조건은 16시간-명주기/8시간-암주기로 조절된 광주기 하에서 온도는 22°C, 습도는 70%로 유지되도록 조절하였다.

병원균 및 생육 특성 조사

병원균은 *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 (DC3000)을 사용하였으며, 3주 동안 생육한 애기장대 식물체에 배양된 DC3000 (1×10^7 cfu/ml)을 접종시켰다. 접종시킨 후, 2일과 4일 동안 자란 각각의 식물체의 잎으로부터 병원균을 추출한 후 순차적으로 희석한 다음 King's medium B (KB) 배지[14]에서 2일 동안 배양하여 콜로니 수를 측정하였다.

AtPGR promoter-GUS 형질전환체의 GUS 발현 분석

AtPGR 단백질의 번역이 시작되는 codon 앞에서부터 5'-upstream 750 bp와 1 kb의 promoter 부분을 특이적 primer (*AtPGR*pro1.0_up 5'-CATCTGCAGGAAGAAGAGACGGCCTATCAC-3'; *AtPGR*pro0.75_up 5'-CATCTGCAGCTTGT

GCTGCTCAGGGCTTAG-3'; *AtPGR*pro_dn 5'-CATGGATCCGAGAATCTGTTGACGACGAAG-3')를 사용하여 최종적으로 pCAMBIA1391Z 벡터에 *Pst*I 및 *Ban*HI 결합시킨 후 애기장대에 형질전환하여, 우수 순종 라인들을 분리하였다. *AtPGR* promoter의 750 bp와 1 kb에 해당하는 부위를 이용한 두 종류의 형질전환체들은 MS 식물 배지에 종자를 과종하여 2주 동안 자란 식물체를 각각 6% glucose, 100 μ M JA, 100 μ M SA 및 DC3000 (1×10^7 cfu/ml) 병원균이 함유된 MS 액체 배지에 옮긴 후, 6시간 동안 처리하였다. 처리된 샘플들을 50 mM sodium phosphate (pH 7.0), 10 mM EDTA, 0.5 mM potassium ferrocyanide, 0.5 mM potassium ferricyanide, 0.1% (w/v) Triton X-100과 0.5 mg/l 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-glucuronide (Gold Bio Technology, Inc)을 포함하고 있는 GUS 염색용액에서 37°C, 12시간 동안 반응시킨 후 100% 에탄올을 이용하여 엽록소를 제거하였다.

Total RNA 추출 및 Quantitative real-time PCR (qPCR) 분석

Total RNA는 MS 식물 배지에 2주 동안 자란 식물체들을 6% glucose, 100 μ M JA, 100 μ M SA 및 DC3000 (1×10^7 cfu/ml) 병원균이 함유된 MS 액체 배지에 옮긴 후, 0, 3, 6 및 12시간 동안 처리한 각 식물체들을 TRIzol reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 추출하였다. qPCR은 total RNA (100 ng)을 이용하여 SensiMix One-Step kit (Quantance, London, UK)와 Rotor-Gene 6000 quantitative PCR apparatus (Corbett Research, Mortlake, NSW, Australia)를 사용하였다. qPCR에 사용된 primer는 *AtPGR* 유전자를 위하여 Forward primer (5'-TGGACTCGAAGCATCAGAA-3')와 Reverse primer (5'-AGGCAGCTAAGATCCTGCCIT-3')를, *PDF1.2* 유전자를 위하여 Forward primer (5'-TGCTTCCATCATCACCCCTTA-3')와 Reverse primer (5'-CACACGATTTAGCACCAAAGA-3')를, *PR1* 유전자를 위하여 Forward primer (5'-TTCTTCCCTCGAAAGCTCAA-3')와 Reverse primer (5'-CGTTCACATAATCCCACGA-3')를, *Actin8 (ACT8)* 유전자를 위하여 Forward primer (5'-TGCCTATCTACGAGGGTTTC-3')와 Reverse primer (5'-GTCCGTCGGGTAAATTCATAG-3')를 사용하였다. 실험 결과는 RG6000 1.7 software (Corbett Research)에 의하여 Delta Delta CT method [16]으로 분석하였고 3회 반복 실험을 통하여 검증하였다.

결과 및 고찰

병원균 처리에 의한 *AtPGR* 유전자 발현 분석

당 유도 유전자인 *AtPGR* 유전자가[3] 병저항성에 관련되어 있는지를 알기 위하여 우선, 병원균 처리에 의하여 *AtPGR*

유전자의 발현 양상을 분석하였다. 2주 동안 자란 wild-type (WT)에 6% glucose 또는 DC3000 (1×10^7 cfu/ml) 병원균이 함유된 MS 액체 배지에서 0, 3, 6, 12시간 동안 처리 후 total RNA를 추출하여 qPCR을 수행하였다(Fig. 1A 및 1D). Fig. 1A는 *AtPGR* 유전자가 glucose에 의하여 유도 발현함을 나타내는 대조구로써 사용하였고, *AtPGR* 전사체는 당 처리 6시간 후 최대 발현하였으며, 12시간에는 감소함을 확인할 수 있었다. 병원균을 처리한 3시간 후 *AtPGR* 유전자가 최대 발현하였으나 그 이후에는 감소함을 확인할 수 있었다(Fig. 1D). 또한, 식물체에서 JA와 SA 호르몬이 병원균 방어 기작과 관련된 바[5] WT에 100 μ M JA와 100 μ M SA 처리하여 *AtPGR* 유전자의 발현양상을 확인하였다(Fig. 1B 및 1C). JA를 처리한 결과, *AtPGR* 전사체는 6시간 동안 점차 발현이 증가하고 12시간에는 감소한 반면, SA를 처리 시 *AtPGR* 전사체는 처리 3시간 후 발현이 증가하고 그 이후에는 점차 감소함을 확인할 수 있었다. 즉, *AtPGR* 발현양상은 glucose 처리 시와 JA 처리 시 유사하였으며 병원균에 의한 *AtPGR* 발현은 SA 처리와 유사함을 알 수 있었다.

GUS 발현 분석

병원균, SA 및 JA에 대한 *AtPGR* 유전자의 발현양상을 확인

하기 위하여 *AtPGR* promoter의 750 bp 및 1 kb를 포함하는 GUS 형질전환체들을 이용하였다. 2주 동안 자란 GUS 형질전환체들은 각각 6% glucose, 100 μ M SA, 100 μ M JA 또는 DC3000 (1×10^7 cfu/ml) 병원균을 6시간 동안 처리한 다음 GUS 발현을 조사하였다(Fig. 2). 대조구로서, 750 bp 및 1 kb 프로모터를 포함하는 GUS 형질전환체들은 GUS 발현이 거의 되지 않는데 반하여, glucose, JA, SA 및 DC3000을 처리한 형질전환체에서는 본엽과 자엽에서 발현이 잘되었음을 확인할 수 있었다. 또한, 처리 조건하에서 750 bp 프로모터를 포함하는 GUS 형질전환체(Fig. 2B)는 1 kb 프로모터를 포함하는 GUS 형질전환체(Fig. 2A) 보다 더욱 강하게 발현했음을 확인할 수 있었다.

AtPGR 형질전환체들로부터 병원균 저항성 조사

AtPGR 과발현 형질전환체(35S::*AtPGR*)의 병원균 저항성을 조사하기 위하여 3주 동안 자란 형질전환체들로부터 DC3000 (1×10^7 cfu/ml) 병원균을 접종한 후 6일이 지나자 병반이 형성됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 과발현 형질전환체의 병반 형성은 WT과 비교했을 시 적게 관찰되었으나, RNAi 형질전환체에서는 병반 형성이 WT과 비슷하게 나타나는 것을 관찰하였다(Fig. 3A). 병원균의 생육 특성을 조사하기 위하여

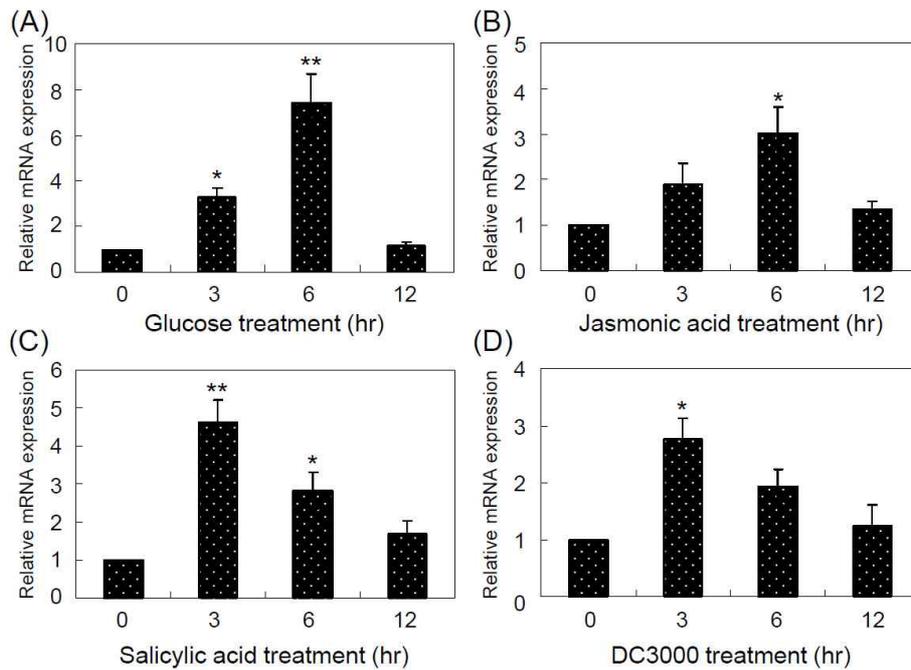


Fig. 1. Expression of the *AtPGR* gene in *Arabidopsis thaliana* under glucose, JA, SA, or DC3000 pathogen. (A-D) qPCR analysis of the expression of *AtPGR* involved in the glucose, JA, SA, or pathogen response. All quantifications were made in three independently isolated RNA samples obtained from plants treated with 6% glucose (A), 100 μ M JA (B), 100 μ M SA (C), or DC3000 (1×10^7 cfu/ml) (D) at the indicated times. *Arabidopsis Actin8* was used as the internal control. Error bars indicate standard deviations of three independent biological samples. Differences between the expression of *AtPGR* in 14-day-old *Arabidopsis* seedlings either untreated or treated with various stresses are significant at the $0.01 < p < 0.05$ (*) or $p < 0.01$ (**) levels.

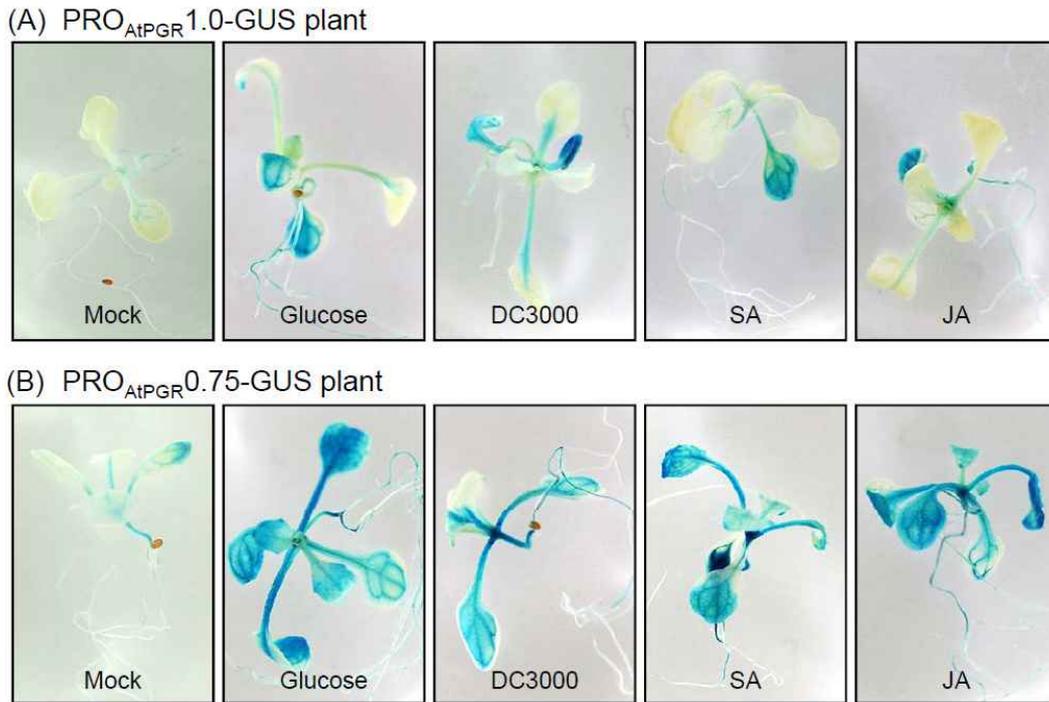


Fig. 2. AtPGR promoter-GUS expression pattern in transgenic *Arabidopsis* plants. (A) PRO_{AtPGR}1.0-GUS expression pattern in transgenic *Arabidopsis* plants. Plants treated with 6% glucose, DC3000 pathogen, 100 μM SA, or 100 μM JA for 6 hr. (B) PRO_{AtPGR}0.75-GUS expression pattern in transgenic *Arabidopsis* plants. Plants treated with 6% glucose, DC3000 pathogen, 100 μM SA, or 100 μM JA for 6 hr.

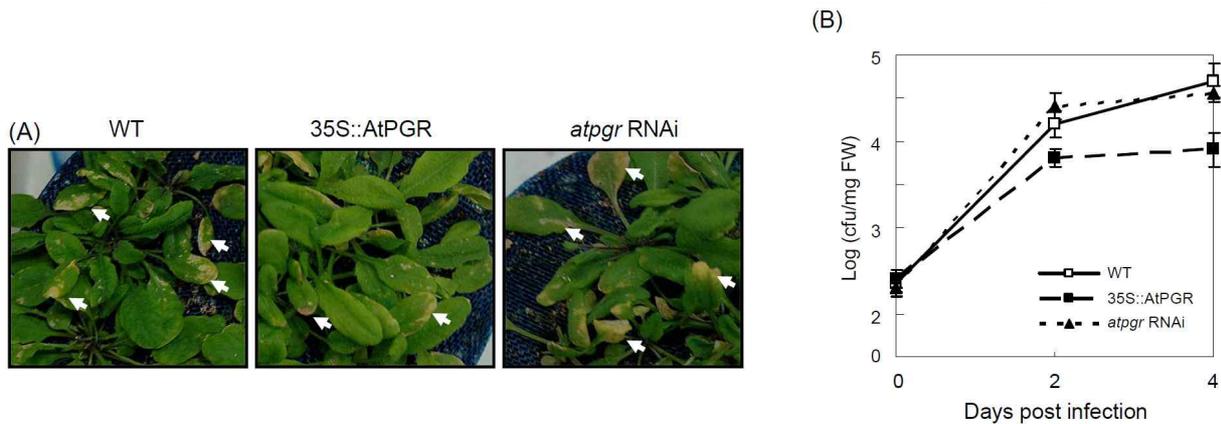


Fig. 3. Expression of 35S::AtPGR in *Arabidopsis* confers increased bacterial resistance. (A) Leaves from wild-type (WT), AtPGR-over-expressing line (35S::AtPGR) and *atpgr* RNAi plants 6 days after dipping with *P. syringae* DC3000 suspension (1×10^7 cfu/ml). Symptoms (arrow) on leaves of 3-week-old *Arabidopsis* plants 6 days after the *P. syringae* DC3000 infection. (B) Line graph of *P. syringae* DC3000 growth rate in WT, 35S::AtPGR and *atpgr* RNAi plants. The growth of the bacteria was determined at the indicated days post infection (DPI). Analysis of variance indicates differences with a significance level of 0.05. FW, fresh weight.

3주 동안 자란 WT 및 AtPGR 형질전환체들로부터 DC3000 (1×10^7 cfu/ml) 병원균을 접종한 후, 2일과 4일 동안 생육시킨 각각의 형질전환체들의 잎으로부터 병원균을 추출한 다음 희석하여 KB 배지에 2일 동안 배양한 후, 콜로니 수를 측정하였

다(Fig. 3B). 과발현 형질전환체는 병원균 수가 WT 보다 약 30% 정도 낮음을 알 수 있었고, RNAi 형질전환체는 WT과 큰 차이가 나타나지 않음을 알 수 있었다. 이러한 결과들을 살펴보면, *AtPGR* 유전자의 과발현은 병원균에 대하여

저항성을 부여함을 알 수 있었지만, WT과 RNAi 형질전환체 간의 병원성 정도가 유사함은 아마도 RNAi 형질전환체들의 endogenous *AtPGR* 전사 발현량이 완전히 억제되지 않았기 때문으로 추정되어진다[3].

AtPGR 형질전환체들로부터 병원균 반응 유전자들의 발현 양상

PDF1.2 및 *PR1* 유전자들은 병원균에 의해 유도 증가된다는 보고는 이미 잘 밝혀졌다[19,22]. 또한 *PDF1.2* 유전자의 전사체는 에틸렌 조건하에서도 증가한다는 보고가 있으며[20], *PR1* 유전자는 산화스트레스 및 UV-C 처리 조건하에서 증가한다는 것으로 알려지고 있다[24].

병원균, JA 및 SA 처리 후, *PDF1.2* 유전자의 발현 양상을 확인한 결과(Fig. 4A), 대조군에서는 *PDF1.2* 유전자의 전사량은 거의 발현되지 않았으며, JA 처리 6시간 후, 대조군에 비해 WT, *AtPGR* 과발현 및 RNAi 형질전환체 모두 *PDF1.2* 유전자의 전사량은 증가하였지만, 특히 과발현 형질전환체는 WT 및

RNAi 형질전환체들에 비해 증가 발현량이 적었다. 즉 JA 처리 시, *AtPGR* 유전자는 JA 유도되는 *PDF1.2* 유전자의 발현 증가량을 억제하는 경향이 있음을 알려준다. 그러나 SA 및 병원균 처리 시, 과발현 형질전환체에서는 WT에 비해 각각 약 2배 및 10배 증가한 반면, RNAi 라인에서는 WT에 비해 각각 약 6배 및 5배 감소하였다. 이러한 결론들은 *AtPGR* 유전자는 *PDF1.2* 유전자를 SA 경로하에서는 증가시키는 반면, JA 경로하에서는 발현 증가량을 감소시키는 경향이 있음을 나타낸다. 그림 4B에서와 같이, *PR1*의 발현 양상은 대조군에서 RNAi 형질전환체는 WT과 큰 차이를 보이지 않았고, 과발현 형질전환체에서는 WT 발현량의 약 2배 정도 증가 양상을 보였다. JA 처리시, RNAi 형질전환체는 거의 발현되지 않았고, 과발현 형질전환체는 WT 발현량의 약 2배 증가하였다. 그러나 SA 및 병원균 DC3000를 처리 시, WT, RNAi 및 과발현 형질전환체들은 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과로 미루어 보아, *AtPGR* 유전자는 JA 경로를 통한 *PR1* 유전자 발현을 조절할 것으로 생각되어진다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 전남대학교 학술연구비(2009-2497) 지원으로 수행되었습니다.

References

- Bourque, S., R. Lemoine, A. Sequeira-Legrand, U. Fayolle, S. Delrot, and A. Pugin. 2002. The elicitor cryptogein blocks glucose transport in tobacco cells. *Plant Physiol.* **130**, 2177-2187.
- Buttner, M. and N. Sauer. 2000. Monosaccharide transporters in plants: structure, function and physiology. *Bla-Biomebranes.* **1465**, 263-274.
- Chung, M. S., P. Huang, C. M. Ha, J. H. Jun, S. J. Ahn, F. C. Zhang, H. J. Bae, B. H. Cho, and C. S. Kim. 2011. Molecular identification and physiological characterization of a putative novel plasma membrane protein from Arabidopsis involved in Glucose response. *J. Plant Biol.* **54**, 57-64.
- Clark, J. I. M. and J. L. Hall. 1998. Solute transport into healthy and powdery mildew-infected leaves of pea and uptake by powdery mildew mycelium. *New Phytol.* **140**, 261-269.
- Dangl, J. L. and J. D. G. Jones. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* **411**, 826-833.
- Fan, L. M., W. Zhang, J. G. Chen, J. P. Taylor, A. M. Jones, and S. M. Assmann. 2008. Abscisic acid regulation of guard-cell K⁺ and anion channels in G beta- and RGS-deficient Arabidopsis lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 8476-8481.
- Ferrari, S., J. M. Plotnikova, G. De Lorenzo, and F. M.

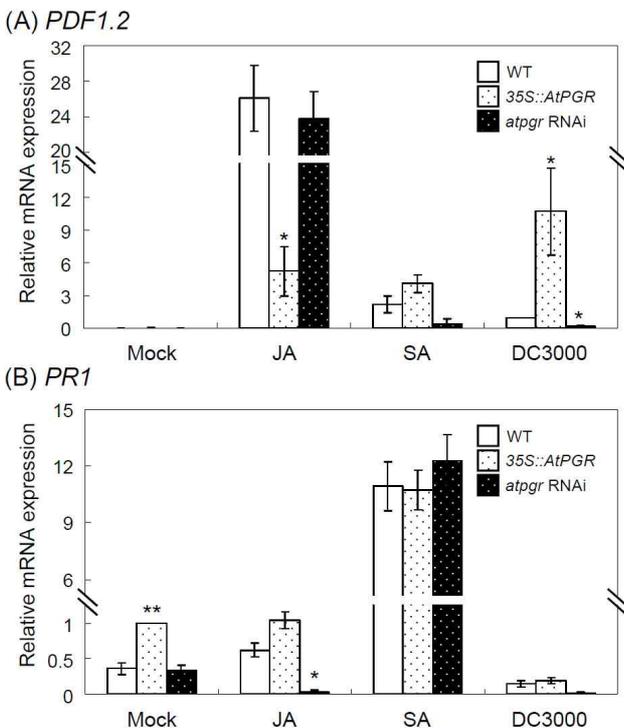


Fig. 4. Expression analysis of pathogen-related genes, *PDF1.2* and *PR1*. mRNA levels were determined by qPCR using total RNA from 14-day-old seedlings, which were submerged in 100 μM JA, 100 μM SA, or DC3000 suspension (1×10⁷ cfu/ml) with gentle shaking for 6 hr. Error bars indicate standard deviations of three independent biological samples. Differences between the expression of *PDF1.2* (A) and *PR1* (B) in 14-day-old *Arabidopsis* seedlings untreated and treated with various stresses are significant at the 0.01 p <math>< 0.05</math> (*) or p <math>< 0.01</math> (**) levels.

- Ausubel. 2003. Arabidopsis local resistance to *Botrytis cinerea* involves salicylic acid and camalexin and requires EDS4 and PAD2, but not SID2, EDS5 or PAD4. *Plant J.* **35**, 193-205.
8. Feys, B. J. and J. E. Parker. 2000. Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. *Trends Genet.* **16**, 449-455.
9. Gao, Y., S. Wang, T. Asami, and J. G. Chen. 2008. Loss-of-function mutations in the Arabidopsis heterotrimeric G-protein alpha subunit enhance the developmental defects of brassinosteroid signaling and biosynthesis mutants. *Plant Cell Physiol.* **49**, 1013-1024.
10. Grigston, J. C., D. Osuna, W. R. Scheible, C. Liu, M. Stitt, and A. M. Jones. 2008. D-Glucose sensing by a plasma membrane regulator of G signaling protein, AtRGS1. *FEBS Letters.* **582**, 3577-3584.
11. Hall, J. L. and L. E. Williams. 2000. Assimilate transport and partitioning in fungal biotrophic interactions. *Aust. J. Plant Physiol.* **27**, 549-560.2
12. Herbers, K., Y. Takahata, M. Melzer, H. P. Mock, M. Hajirezaei, and U. Sonnewald. 2000. Regulation of carbohydrate partitioning during the interaction of potato virus Y with tobacco. *Mol. Plant Pathol.* **1**, 51-59.
13. Huang, J., J. P. Taylor, J. G. Chen, J. F. Uhrig, D. J. Schnell, T. Nakagawa, K. L. Korth, and A. M. Jones. 2006. The plastid protein thylakoid formation1 and the plasma membrane G-protein GPA1 interact in a novel sugar-signaling mechanism in Arabidopsis. *Plant Cell* **18**, 1226-1238.
14. King, E. O., M. K. Ward, and D. E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of hycocyanin and fluoescin. *J. Lab. Clin. Med.* **44**, 301 - 307.
15. Kunkel, B. N. and D. M. Brooks. 2002. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* **5**, 325-331.
16. Livak, K. J. and T. D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods* **25**, 402-408.
17. Loake, G. and M. Grant. 2007. Salicylic acid in plant defence-the players and protagonists. *Curr. Opin. Plant Biol.* **10**, 466-472.
18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant* **15**, 473-497.
19. Nandi, A., W. Moeder, P. Kachroo, D. F. Klessig, and J. Shah. 2005. Arabidopsis ssi2-conferred susceptibility to *Botrytis cinerea* is dependent on EDS5 and PAD4. *Mol. Plant Microbe Interact* **18**, 363-370.
20. Penninckx, I. A. M. A., B. P. H. J. Thomma, A. Buchala, J. P. Mettraux, and W. F. Broekaert. 1998. Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in Arabidopsis. *Plant Cell* **10**, 2103-2113.
21. Rolland, F., E. Baena-Gonzalez, and J. Sheen. 2006. Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and novel mechanisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* **57**, 675-709.
22. Ryals, J. A., U. H. Neuenschwander, M. G. Willits, A. Molina, H. Y. Steiner, and M. D. Hunt. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* **8**, 1809-1819.
23. Sauer, N. and R. Stadler. 1993. A sink-specific H⁺/monosaccharide co-transporter from *Nicotiana tabacum*: cloning and heterologous expression in baker's yeast. *Plant J.* **4**, 601-610.
24. Shapiro, A. D. and C. Zhang. 2001. The role of NDR1 in avirulence gene-directed signaling and control of programmed cell death in Arabidopsis. *Plant Physiol.* **127**, 1089-1101.
25. Truemit, E., J. Schmid, P. Epple, J. Illig, and N. Sauer. 1996. The sink-specific and stress-regulated Arabidopsis STP4 gene: enhanced expression of a gene encoding a monosaccharide transporter by wounding, elicitors, and pathogen challenge. *Plant Cell* **8**, 2169-2182.
26. Wang, S., S. M. Assmann, and N. V. Fedoroff. 2008. Characterization of the Arabidopsis heterotrimeric G protein. *J. Biol. Chem.* **283**, 13913-13922.

초록 : 애기장대 AtPGR 단백질의 병 저항성에 관한 생리적 특성 분석

정문수 · 김철수*

(전남대학교 농업생명과학대학 식물생명공학부)

식물체에서 당 조절 인자의 병 저항성 생리적 특성을 살펴보기 위하여, 원형질막에 존재하는 glucose 조절인자인 애기장대 *AtPGR* 유전자의 과발현 및 RNAi 형질전환체를 사용하였다[3]. *AtPGR* 유전자는 병원균 처리에 의하여 전사 발현양이 증가하였을 뿐만 아니라, JA와 SA 처리 시에도 *AtPGR* 전사 발현양이 증가함을 확인하였다. 과발현 형질전환체를 이용하여 병 저항성을 살펴본 결과, *AtPGR* 유전자는 병원균에 대해 저항성을 유도함을 알 수 있었다. 또한 병원균 유도 증가 유전자로 알려진 *PDF1.2* 및 *PRI* 유전자 발현 양상을 qPCR을 통해 살펴본 결과, *AtPGR* 유전자는 *PDF1.2* 유전자를 SA 경로 하에서는 증가시키는 반면, JA 경로 하에서는 발현 증가량을 감소시키는 경향이 있음을 나타내었고, *PRI* 유전자의 발현은 JA 경로를 통해 조절할 것으로 생각되어진다. 이러한 결과를 바탕으로, *AtPGR* 유전자는 glucose 뿐만 아니라 병원균 반응에도 관련되어져 있음을 알 수 있다.