

## Regulation of Phorbol 12-Myristate 13-Acetate in the Gravitropic Response and Ethylene Production in Primary Roots of Maize

Yun Ho Jeong, Jong-Sik Kim, Kon-Joo Lee and Soon Young Kim\*

Department of Biological Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Received November 8, 2011 / Revised December 6, 2011 / Accepted December 6, 2011

Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), a known tumor-promoting phorbol ester, activates the signal transduction enzyme protein kinase C (PKC) in animal cells. We investigated the effect of PMA on the regulation of gravitropism via ethylene production in primary roots of maize. PMA stimulated root growth and the gravitropic response in a concentration-dependent manner at  $10^{-6}$  M and  $10^{-4}$  M over 8 hrs. These effects were prevented by treatment with staurosporine (STA), a potent inhibitor of PKC. These results support the possibility that the gravitropic response might be regulated through protein kinases that are involved in the signal transduction system. Ethylene is known to play a role in the regulation of root growth and gravitropism. Ethylene production was increased by about 26% and 37% of the control rate in response to  $10^{-6}$  M and  $10^{-4}$  M PMA, respectively. PMA also stimulated the activity of ACC synthase (ACS), which converts the S-adenosyl-L-methionine (AdoMet) to 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in the ethylene production pathway. These effects on ethylene production were also prevented by STA treatment. These results suggest that the root gravitropic response in maize is regulated through protein kinases via ethylene production.

**Key words** : PMA, PKC, gravitropic response, ethylene production, maize roots

### 서 론

식물에서 빛, 중력, 온도 등과 같은 신호는 발달이나 생장과 같은 생리적인 반응을 일으키기 위하여 세포 내로 전달된다. 이러한 신호전달 시스템은 동물에서 잘 알려져 있으며, 식물에서도 이에 대한 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 동물에서와 마찬가지로 식물에서도 phosphatidylinositol pathway에 대한 연구가 이루어져, phospholipase C의 작용으로 diacylglycerol (DAG)과 inositol (1,4,5)-trisphosphate (IP3)가 형성되고 이들은 빛의 운동, 빛에 대한 반응 및 삼투조절에 관여한다고 알려졌다[3,11,13]. 동물에서 DAG는  $Ca^{2+}$ 을 통하여 protein kinase C (PKC)의 활성을 촉진하여 신호 자극이 protein phosphorylation-dephosphorylation 반응으로 전환된다[14]. 한편, 옥수수에서도 protein kinase C-type (ZmPKC70)이 확인되고, 이 효소는 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)에 의해 조절되며, staurosporine (STA)에 의해 억제되었다[2]. Szczegieliak 등[20]에 의하면, 옥수수에서 분리된 calcium-dependent protein kinase는 phospholipid에 의해 활성화되었다. 또한 옥수수 뿌리에 mitogen-activated protein kinase kinase (ZmMEK1)가 존재한다고 보고되었다[5]. 따라서 옥수수 뿌리에도 신호전달에 관여하는 중간 단백질과 pro-

tein kinase의 활성이 있는 enzyme이 존재한다. 최근 연구에 따르면, auxin에 의해 형성된 reactive oxygen species (ROS)의 생성은 phosphatidylinositol 3-kinase (PtdIns 3-kinases)의 활성화가 필요하며, 이 때 생성된 ROS는 굴중성 반응을 촉진하였고, PtdIns 3-kinases의 inhibitor인 LY294002는 ROS의 생성과 굴중성 반응을 억제하였다[7]. 이러한 결과들은 식물에서도 auxin과 같은 내부 신호나 중력이나 빛과 같은 외부 신호는 동물과 유사한 신호전달 체계를 통하여 생리적인 조절이 일어난다는 것을 제시한다.

뿌리 굴중성은 root cap에서 중력을 인지하고, 인지한 신호는 뿌리의 신장대로 전달되는데 이러한 신호전달은 auxin transport를 통한 auxin의 재분포가 일어나 굴중성이 일어난다[19]. 굴중성 반응은 자극을 인지한 후 몇 분 내에 반응이 일어나는 빠른 반응이다. 중력자극에 따라 auxin은 세포질 내에서  $Ca^{2+}$ 의 수준을 증가시키고, 이  $Ca^{2+}$  수준은 세포벽에서 pH를 조절하여 굴중성 반응을 일으킨다고 보고되었다[10]. 즉 굴중성 반응이 일어나기 위하여 auxin이 작용한다. 그리고 auxin이 작용하기 위해서는 polar auxin transport가 일어나야 하며, transport는 AUXIN RESISTANT1/LIKE AUX1 (AUX/LAX) influx carriers [21], PIN efflux carriers [15], PGP/ABCB transporter [4]에 의해 조절되는데 이 중에서 PIN efflux에 대하여 많은 연구가 이루어졌다.

단백질 인산화 과정이 auxin transport를 조절하며, 가역적인 protein phosphorylation이 굴중성과 같은 생리적인 반응

#### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5647, Fax : +82-54-820-7705

E-mail : kimsy@andong.ac.kr

을 PINOID (PID) kinase의 작용을 통하여 조절할 가능성이 있다고 제시되었다[6,18].

Ethylene은 종자 발아, 종자 성장, 각 기관의 발달과 노화를 조절하며, ethylene 생성은 다른 식물호르몬인 auxin, cytokinin, gibberellin, abscisic acid 등에 의해 조절되고, 다양한 스트레스에 의해 생산이 촉진된다[22]. 이러한 ethylene signaling은 mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade가 관여하며, 이를 통하여 다른 호르몬들과 서로 연결되어 작용한다고 알려졌다[27]. Arabidopsis가 발달하는 동안 auxin과 ethylene은 조직과 시기에 따라 서로 상호작용을 하는데, 뿌리에서 ethylene은 뿌리의 신장을 억제하는 효소의 발현을 조절한다고 제시되었고[17], ethylene은 뿌리의 신장대에서 PIN 유전자의 발현을 촉진한다는 것이 밝혀졌다[16]. 이러한 연구들은 주로 다양한 mutant가 있는 쌍자엽 식물인 Arabidopsis를 이용하여 이루어졌다.

본 연구에서는 돌연변이체가 다양하지 않아 분자수준에서의 연구 결과가 많지 않은 단자엽인 옥수수 일차뿌리에서 굴중성 반응이 일어날 때, 신호전달경로에서 protein kinase C 혹은 calcium-dependent protein kinase의 역할을 연구하기 위하여 protein kinase C activator인 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)를 처리한 후 굴중성 반응과 뿌리 성장 및 에틸렌 생성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 식물 재료

옥수수 종자(*Zea mays* L., Golden cross bantum 70)를 흐르는 물에 충분히 세척하고 27°C 암 상태에서 10시간 동안 물에 불린 후, 불투명한 플라스틱 쟁반에 젖은 종이 타월을 깔고 옥수수 종자의 배(embryo) 부분이 쟁반 바닥에 닿도록 일렬로 배열한 다음, 그 위에 종이 타월을 덮고 충분히 적셨다. 그 후 쟁반을 포개어 물이 들어 있는 통 안에 수직 방향으로 세우고 27°C 암 상태의 배양기에서 40시간 동안 발아시켜 길이가 15-20 mm 정도인 옥수수 일차뿌리를 선택하여 실험 재료로 사용하였다.

### Ethylene 생성 측정

완충용액(Potassium-phosphate buffer, 50 mM, pH 6.8; 50 µg/ml chloramphenicol)에 옥수수 일차뿌리 절편(1 cm ; root cap 포함) 40개를 25 ml vial에 넣고 실리콘 마개로 막아 8시간 동안 진탕 배양(27°C, 170 rpm, dark) 하였다. 2시간 간격으로 기체 1 ml씩을 주사기로 채취하여 gas chromatography (GC; Hewlett-Packard, 5890 series II, USA)를 이용하여 ethylene 생성량을 측정하였다.

### *In vitro* ACC Synthase (ACS) activity 측정

*In vitro*에서 ACC synthase activity가 AdoMet에서 ACC로 전환되는 단계를 조절하는 것에 근거하여 Woeste 등[24]의 방법을 일부 수정하여 수행하였다. 시간 별로 배양하여 수거한 뿌리 조직 절편 40개를 extraction buffer (250 mM, pH 8.0, potassium phosphate buffer, 10 µM pyridoxal phosphate, 1 mM EDTA, 2 mM PMSF, 5 mM DTT)로 분쇄 후 원심 분리하였다. 이 중 상등액 1 ml를 취하여 vial에 옮기고 실리콘 마개로 막고 5 mM AdoMet 0.1 ml를 첨가한 다음, 1시간 동안 진탕 배양(dark, 22°C, 170 rpm)하였다. 배양 후 20 mM HgCl<sub>2</sub> 용액과 냉각된 NaOH/NaOCl (포화된 NaOH:5% NaOCl=1:1[v/v]) 용액을 주사기를 이용하여 0.1 ml씩 주입하여 얼음에서 10분 동안 반응시켜 ethylene 생성을 유도하였다. 기체 1 ml를 취한 후 GC를 이용하여 ACC synthase 활성을 측정하였다.

### *In vivo* ACC Oxidase (ACO) activity 측정

ACC가 ethylene으로 전환하는 단계에 ACC oxidase activity가 작용함을 근거로 하여 Wang and Woodson [23]의 방법을 일부 수정하여 수행하였다. PMA가 처리된 완충용액(0.5 ml Potassium - phosphate buffer, 50 mM, pH 6.8; 50 µg/ml chloramphenicol)에 뿌리조직 절편 40개와 0.1 mM AVG (L-α (2-aminoethoxyvinyl)-glycine)를 첨가한 후, 8시간 동안 진탕 배양(dark, 27°C, 170rpm)하여 조직 내의 ACC synthase의 활성을 억제시켰다. 배양이 끝난 후 뿌리조직 절편을 수거하여 증류수로 세척한 후 1 mM ACC를 처리한 완충용액 (0.5 ml potassium phosphate buffer, 50 mM, pH 6.8)에 1시간 동안 배양하였다. 조직 절편을 다시 증류수로 세척하여 완충용액 potassium phosphate buffer (50 mM, pH 6.8)에 1시간 동안 진탕 배양한 후 기체 1 ml를 채취하여 GC를 이용하여 측정하였다.

### 뿌리의 길이생장과 굴중성 측정

1.5 ml tube에 농도 별 시약이 처리된 K-P buffer (5 Mm, pH 6.8)을 넣은 다음, 1.5~2.0 cm 정도로 곧게 자란 옥수수 뿌리를 전체가 잠기도록 세우 수직방향으로 고정시킨 뒤 습도가 유지되는 상자 안에서 1시간 동안 전 처리 하였다. 전 처리된 뿌리를 습도가 유지되는 유리 상자에 수직으로 고정시켜서 시간의 경과에 따른 반응을 PC CAM을 이용하여 8시간 동안 촬영하여 길이 생장을 측정하였다. 한편1시간 동안 전 처리한 뿌리를 수평방향으로 고정시켜 8시간 동안 굴중성 반응의 변화를 관찰하였다. 길이와 굴중성 반응의 변화는 capture된 파일을 Image Tool program을 이용하여 측정하였다.

### 통계 분석

모든 실험은 최소한 4회 이상 반복하였고, 각 실험 처리구당 40개의 뿌리 절편을 사용하였다.  $p < 0.05$  유의성을 검사하기

위하여 mean value는 Student *t* test에 따라 계산하였다.

### 결과 및 고찰

#### PMA가 뿌리의 길이 생장에 미치는 영향

Protein kinase C activator로 알려진 PMA가 굴중성 반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여 먼저 뿌리 길이 생장에 미치는 영향을 조사하였다.  $10^{-6}$  M PMA와  $10^{-4}$  M PMA를 1시간 동안 전처리한 뿌리는 1 시간 이내에 촉진 반응을 나타내기 시작하여 8 시간 후 각각 최대 21%와 44%의 증가를 보였고, PKC inhibitor인 STA를 처리하면 PMA가 나타내는 생장의 증가는 상쇄되었다(Fig. 1). 즉, PMA와 STA를 함께 처리하면 PMA에 의한 증가 효과가 나타나지 않았다.

#### PMA가 뿌리 굴중성 반응에 미치는 영향

수직 방향으로 PMA를 1시간 동안 전처리 한 후 굴중성 반응을 측정할 결과,  $10^{-6}$  M PMA를 전처리한 뿌리의 굴중성 반응은 약 30분 경과 후부터 촉진되기 시작하여 2시간 경과 후에는 18%, 4시간 경과 후에는 35% 이상 촉진되었다(Fig. 2).  $10^{-4}$  M PMA를 처리한 뿌리 굴중성 반응은 2시간 경과 후에는 50% 이상, 4시간 경과 후에는 68% 이상 촉진되었다.  $10^{-4}$  M PMA를 처리한 뿌리는 4시간 이후에,  $10^{-6}$  M PMA를 처리한 뿌리는 5시간 이후에 최대 굴곡을 나타내었고, 대조구 뿌리는 6시간 이후 최대 굴곡을 나타내었다. 이러한 PMA의 영향은 뿌리 성장에서와 마찬가지로 STA 처리에 의해 상쇄되었다. 즉, PMA와 STA를 함께 처리하면 굴중성 반응은 2시간 경과 후에는 34% 이상, 4시간 경과 이후에는 47% 이상 대조구보다 오히려 억제되었다(Fig. 2). 그러므로 이러한 결과는 뿌리 생장

과 굴중성 반응이 신호전달경로에 작용하는 효소의 하나인 PKC에 의해 조절될 가능성을 제시한다.

한편, 에틸렌 생성과 굴중성 반응은 직접적인 연관이 있는 것으로 알려졌다. 에틸렌 생성이 증가되면 옥수수 뿌리 생장이 억제되고[9], 뿌리에 에틸렌 생성 억제제를 전처리하여 굴중성 반응의 형태가 변화됨을 확인하여 굴중성 반응을 일으키기 위해 조직 내에 적정 수준의 에틸렌이 필요하다는 가능성이 제시되었다[12].

#### PMA가 에틸렌 생합성 조절에 미치는 영향

PMA가 뿌리 생장과 굴중성 반응을 촉진하는 결과를 설명하기 위하여 PMA를 처리하여 에틸렌 생합성을 측정하였다. PMA를 처리한 뿌리에서는 2시간부터 에틸렌 생성이 증가되었고, 4시간 이후에는 현저하게 증가되었다. 4시간 배양 후, 대조구와 비교하여 에틸렌 생성은  $10^{-6}$  M PMA와  $10^{-4}$  M PMA 처리 시 각각 25%와 37% 촉진되었다(Fig. 3).

PMA가 에틸렌 생성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 STA를 처리하여 에틸렌 생성을 측정하였다. PMA에 의해 촉진된 에틸렌 생성은 STA에 억제되었다(Fig. 3). 4시간 후  $10^{-6}$  M PMA는 뿌리 절편에서 에틸렌 생성을 촉진시켰지만,  $10^{-6}$  M PMA과  $10^{-5}$  M STA (P6+S5)과  $10^{-4}$  M PMA과  $10^{-5}$  M STA (P4+S5)를 함께 처리한 뿌리에서는 에틸렌 생성이 오히려 억제되었다(Fig. 3).

#### ACS와 ACO 활성에 미치는 PMA의 효과

식물체에서 ethylene은 methionine으로부터 S-adenosyl-L-methionine (AdoMet)으로 전환되고, 다시 1-aminocyclopropane-1-carboxyl acid (ACC)를 거쳐 생합성 된다[1]. AdoMet으로부터

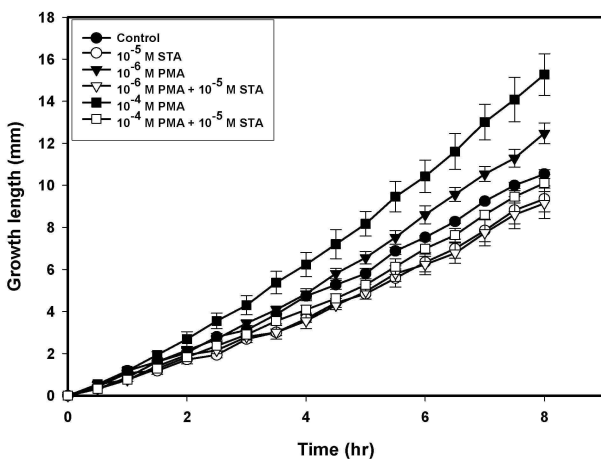


Fig. 1. Effect of PMA on the root growth with or without STA for 8 hrs. Roots were pretreated with  $10^{-6}$  M and  $10^{-4}$  M PMA and/or  $10^{-5}$  M STA for 1 hr, and measured the growth for 8 hrs. PMA stimulated the root growth and STA cancelled out this stimulation. (n>20).

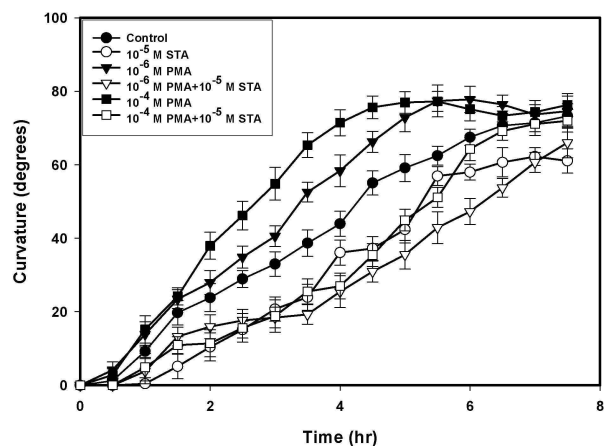


Fig. 2. Effect of PMA on the root gravitropic response with or without STA for 8 hrs. Roots were pretreated with  $10^{-6}$  M and  $10^{-4}$  M PMA and/or  $10^{-5}$  M STA for 1 hr vertically, and measured the gravitropic response in horizontal position. PMA stimulated the root gravitropic response and STA cancelled out this stimulation. (n>20).

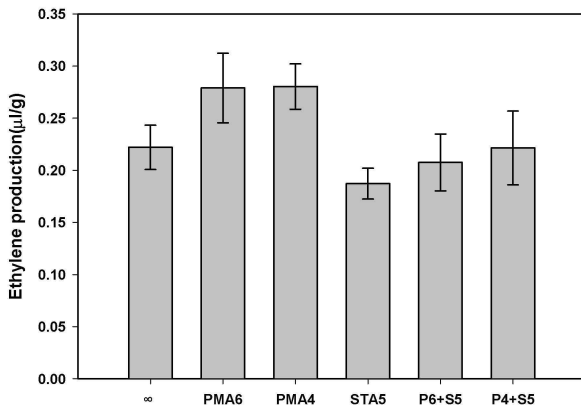


Fig. 3. Effect of  $10^{-5}$  M STA on the ethylene production in the presence of  $10^{-6}$  M and/or  $10^{-4}$  M PMA at 4 hrs. STA inhibited PMA-induced ethylene production at 4 hrs. PMA6:  $10^{-6}$  M PMA; PMA4:  $10^{-4}$  M PMA; STA5:  $10^{-5}$  M STA; P6+S5:  $10^{-6}$  M PMA+ $10^{-5}$  M STA; P4+S5:  $10^{-4}$  M PMA+ $10^{-5}$  M STA.

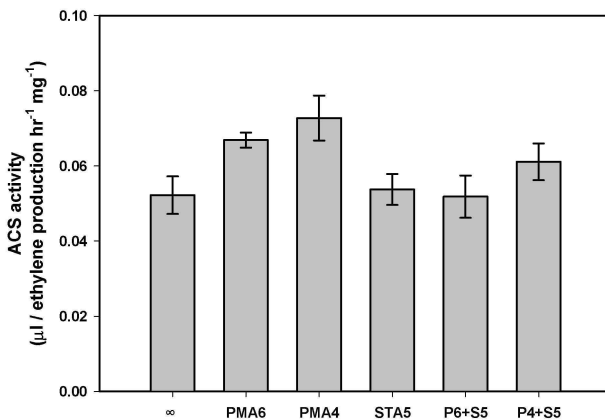


Fig. 4. Effect of  $10^{-5}$  M STA on the ACS activity in the presence of  $10^{-6}$  M and/or  $10^{-4}$  M PMA at 4 hrs. STA inhibited PMA-induced ACS activity at 4 hrs. PMA6:  $10^{-6}$  M PMA; PMA4:  $10^{-4}$  M PMA; STA5:  $10^{-5}$  M STA; P6+S5:  $10^{-6}$  M PMA+ $10^{-5}$  M STA; P4+S5:  $10^{-4}$  M PMA+ $10^{-5}$  M STA.

터 ACC가 합성되는 단계는 pyridoxal 효소인 ACC synthase (ACS)에 의해 조절되고[8], ACC synthase는 ethylene의 생성을 조절하는 주요 효소로서 세포질에 존재하며 pyridoxal phosphate-mediated 효소 작용의 억제제로 알려진 AVG (*L*-α (2-aminoethoxyvinyl)-glycine)에 의해 강하게 억제 된다[25]. 한편, ACC가 ethylene으로 전환되는 단계는 ACC oxidase (ACO)에 의해 조절 된다[26]. 따라서 PMA가 에틸렌 생합성 경로의 어느 단계에서 작용하는지 알아보기 위해 *in vitro*에서 ACS와 ACO의 활성을 조사하였다(Fig. 4). 그 결과, ACS 활성은 에틸렌 생성과 같은 패턴으로 PMA에 의해 증가하였으나, ACO 활성과 PMA에 의한 에틸렌 생성과는 관계가 없었다 (data not shown). 즉, ACS 활성은  $10^{-6}$  M PMA 처리하면 27%,

$10^{-4}$  M PMA를 처리하면 48% 정도 촉진되었다. 이러한 PMA에 의한 ACS 활성은 STA 처리에 의하여 억제되었다(Fig. 4). 이러한 결과는 옥수수 뿌리의 생장과 굴중성 반응은 PKC에 의해 조절되며, 이러한 조절과정은 에틸렌 생성을 조절하여 증계된다는 사실을 제시한다.

기존의 연구에서 옥수수에 PMA를 처리하여 뿌리 조직에 존재하는 단백질의 발현 변화를 알아본 결과 PKC와 유사한 활성을 가지는 효소가 발견되었다[2]. 본 연구 결과, PKC를 활성화시키는 PMA에 의하여 굴중성 반응과 에틸렌 생합성이 촉진됨이 확인되었고, 이와 반대로 STA에 의해 PMA의 효과가 상쇄됨을 확인하여 굴중성 반응과 에틸렌 생합성이 PKC에 작용하여 일어날 것이라고 예상하였다. 이러한 반응이 PKC에 증계되는 것인지 확인하기 위하여 옥수수 뿌리 조직에 PMA나 STA를 처리 한 후 단백질의 변화에 대한 연구를 할 예정이다.

## 감사의 글

이 논문은 2010학년도 안동대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

## References

- Adams, D. O. and S. F. Yang. 1979. Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 170-174.
- Chandok, M. R. and S. K. Sopory. 1998. ZmPKC70, a protein kinase C-type enzyme from maize. *J. Biol. Chem* **273**, 19235-19242.
- Cote, G. G. 1995. Signal transduction in leaf movement. *Plant Physiol.* **109**, 729-734.
- Geisler, M. and A. S. Murphy. 2006. The ABC of auxin transport: The role of p-glycoproteins in plant development *FEBS Letter* **580**, 1094-1102.
- Hardin, S. C. and S. M. Wolniak. 2001. Expression of the mitogen-activated protein kinase kinase ZmMEK1 in the primary roots of maize. *Planta* **213**, 916-926.
- Huang, F., M. K. Zago, L. Abas, A. Marion, S. Galvan-Ampudia, and R. Offringa. 2010. Phosphorylation of conserved PIN motifs directs Arabidopsis PIN1 polarity and auxin transport. *Plant Cell* **22**, 1129-1142.
- Joo, J. H., H. J. Yoo, I. Hwang, J. S. Lee, K. H. Nam, and Y. S. Bae. 2005. Auxin-induced reactive oxygen species production requires the activation of phosphatidylinositol 3-kinase. *FEBS letters* **579**, 1243-1248.
- Kende, H. 1993. Ethylene biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **44**, 283-307.
- Kim, S. Y. and T. J. Mulkey. 1997. Effect of ethylene antagonists on auxin-induced inhibition of intact primary root elongation in maize (*Zea mays* L.). *J. Plant Biol.* **40**, 256-260.

10. Monshausen, G. B., N. D. Miller, A. S. Murphy, and S. Gilroy. 2011. Dynamics of auxin-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  and pH signaling in root growth revealed by integrating high-resolution imaging with automated computer vision-based analysis. *Plant J.* **65**, 309-318.
11. Morse, M. J., R. C. Crain, G. G. Cote, and R. L. Satter. 1989. Light-stimulated inositol phospholipid turnover in *Samanea saman* pulvini. *Plant Physiol.* **89**, 724-727.
12. Mulkey, T. J., D. R. Poling, S. Y. Kim, and M. L. Evans. 1988. Effect of aminoethoxyvinyl glycine on root gravitropism in maize. *Curr. Topics Plant Biochem. Physiol.* **7**, 277.
13. Munnik, T., R. F. Irvine, and A. Musgrave. 1998. Phospholipid signaling in plants. *Biochem. Biophys. Acta* **1389**, 222-272.
14. Nishizuka, Y. 1995. Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses *FASEB J.* **9**, 484-496.
15. Paponov, I. A., W. D. Teale, M. Trebar, I. Blilou, and K. Palme. 2005. The PIN auxin efflux facilitators: evolutionary and functional perspectives. *Trends Plant Sci.* **10**, 170-177.
16. Ruzicka, K., K. Ljung, S. Vanneste, R. Podhorska, T. Beeckman, J. Friml, and E. Benkova. 2007. Ethylene regulates root growth through effect on auxin biosynthesis and transport-dependent auxin distribution. *Plant Cell* **19**, 2197-2212.
17. Stepanova, A. N., J. Yun, A. V. Likhacheva, and J. M. Alonso. 2007. Multilevel interactions between ethylene and auxin in Arabidopsis roots. *Plant Cell* **19**, 2169-2185.
18. Sukumar, P., K. S. Edwards, A. Rachman, A. Delong, and G. K. Muday. 2009. PINOID kinase regulates root gravitropism through modulation of PIN2-dependent basipetal auxin transport in Arabidopsis. *Plant Physiol.* **150**, 722-735.
19. Swarup, R., E. M. Kramer, P. Perry, K. Knox, H. M. O. Leyser, J. Haseloff, G. T. S. Beemster, R. Bhalerao, and M. J. Bennett. 2005. Root gravitropism requires lateral root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal. *Nat. Cell Biol.* **7**, 1057-1065.
20. Szczegielniak, J., A. Liwosz, I. Jurkowski, M. Loog, G. Dobrowolska, P. Ke, A. C. Harmon, and G. Muszynska. 2000. Calcium-dependent protein kinase from maize seedlings activated by phospholipid. *Eur. J. Biochem.* **267**, 3818-3827.
21. Vandenbussche, F., J. Petrasek, P. Zadnikova, K. Hoyerova, B. Pesek, V. Raz, R. Swarup, M. Bennett, E. Zazimalova, E. Benkova, and Van Der D. Straete. 2010. The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin-ethylene interactions during apical hook development in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Development* **137**, 597-606.
22. Wang, K. L. C., H. Li, and J. R. Ecker. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell* **14**, S131-S151.
23. Wang, H. and W. R. Woodson. 1989. Reversible inhibition of ethylene action and interruption of petal senescence in carnation flowers by norbornadiene. *Plant Physiol.* **89**, 434-438.
24. Woeste, K. E. C., C. Ye, and J. J. Kieber. 1999. Two Arabidopsis mutants that overproduced ethylene are affected in the posttranscriptional regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase. *Plant Physiol.* **119**, 521-529.
25. Yang, S. F. and N. E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **35**, 155-189.
26. Yip, W. K., X. Z. Jiao, and S. F. Yang. 1988. Dependence of *in vivo* ethylene production rate on 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content and oxygen concentration. *Plant Physiol.* **88**, 553.
27. Yoo, S. D., Y. Cho, and J. Sheen. 2009. Emerging connections in the ethylene signaling network. *Trends Plant Sci.* **14**, 270-279.

## 초록 : 옥수수 뿌리에서 굴중성 반응과 에틸렌 생성에 미치는 Phorbol 12-myristate 13-acetate 조절 작용

정윤호 · 김종식 · 이건주 · 김순영\*  
(안동대학교 생명과학과)

암을 유발하는 phorbol ester로 알려진 Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)는 동물세포에서 신호전달 효소의 하나인 protein kinase C (PKC)를 활성화시킨다. 본 연구에서는 옥수수 일차뿌리에서 PMA가 에틸렌 생성을 통하여 굴중성 반응을 조절하는 효과를 연구하였다. PMA는 8시간 동안  $10^{-6}$  M과  $10^{-4}$  M에서 농도 의존적으로 뿌리 성장과 굴중성 반응을 촉진시켰다. 이러한 촉진 효과는 PKC의 억제제인 staurosporine (STA)에 의해 상쇄되었다. 이 결과는 굴중성 반응이 신호전달 체계에 관여하는 protein kinase C를 통하여 조절될 가능성을 제시하고 있다. 식물호르몬인 에틸렌도 뿌리 성장과 굴중성 반응에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 에틸렌 생성은  $10^{-6}$  M과  $10^{-4}$  M PMA에 의하여 각각 26%와 37% 증가하였다. PMA는 또한 ACC synthase (ACS) 활성을 촉진시켰다. 또한 이 증가 효과는 STA에 의하여 상쇄되었다. 이 결과는 옥수수 뿌리에서 굴중성 반응은 에틸렌 생성을 거쳐 protein kinase를 통하여 조절될 가능성을 제시하고 있다.