

Regulation of Ethylene Biosynthesis in Phytochrome Mutants of the *Arabidopsis* Root

Ji Hye Park and Soon Young Kim*

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

Received March 22, 2012 / Revised April 6, 2012 / Accepted April 6, 2012

In order to investigate the effect of phytochromes on the regulation of ethylene biosynthesis, we measured the ethylene production and the activities of enzymes involved in ethylene biosynthesis using phytochrome mutants such as *phyA*, *phyB*, and *phyAB* of *Arabidopsis*. The ethylene production was decreased in mutants grown in white light. In particular, double mutants showed a 37% decrease compared to the wild type in ethylene production. When *Arabidopsis* roots were grown in the dark, mutants did not show a decrease in ethylene production; however, production was significantly decreased in the double mutant grown in red light. Only *phyB* did not show the decrease in the ethylene production in far-red light. Unlike the ACO activities, the ACS activities of mutants showed the same pattern as the ethylene production under several light conditions. The results of ACS activities confirmed the expression of the ACS gene by RT-PCR analysis. The decrease of ethylene production in mutants was due to the lower activity of ACC synthase, which converts the S-adenosyl-L-methionine (AdoMet) to 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), the precursor of ethylene. These results suggested that both phytochrome A and B play an important role in the regulation of ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* roots in the conversion step of AdoMet to ACC, which is regulated by ACS.

Key words : *Arabidopsis* root, phytochrome mutant, ethylene production, light

서 론

식물은 주변 환경에서 빛과 중력과 같은 여러 자극을 받아들이며, 이 자극에 적절하게 반응하여 생장을 한다. 식물이 중력 신호에 반응하면 뿌리는 수분과 무기영양을 흡수하기 위하여 토양 속으로 자라며, 줄기는 광합성을 위하여 대기 중으로 자란다. 빛은 종자발아, 엽록체 발달[3], 음성·양성 굴광성[10,19] 등과 같은 식물 생장과 발달을 조절한다. 식물은 빛 신호를 인지하기 위하여 여러 가지 광수용체를 가지고 있다.

*Arabidopsis*에서 빛에 의한 식물 생장 조절을 담당하는 phytochrome은 넓은 범위의 빛에 반응하는 중요한 광 수용체이다. *Arabidopsis*는 5종류의 phytochrome gene family (*PHYA* ~ *PHYE*)를 가지고 있는데, 이들은 아미노산 서열의 유사성에 기초하여 *phyA/C*와 *phyB/D/E*인 2가지 유형으로 분류할 수 있다[4].

첫 번째 유형인 *phyA*는 암소에서 자란 조직에 많이 존재하며 빛에 불안정한 phytochrome으로 지속적인 far-red light에 반응하는데 필요하다. 반면에, *phyB-E*는 P_{fr} 형태에서 안정한 유형이며, 빛에서 자란 조직에 많이 존재하고 빛에 안정하다[6,12,20]. *phyB*는 wild type과 비교하여 하배축과 뿌리털 등이 길며 엽록소의 양이 적고 개화가 빠르다. Far-red에서 이 mu-

tant는 wild type보다 하배축 생장이 덜 일어나 *phyB*는 음지 회피 반응을 조절하는 것을 나타낸다[18].

Far-red light에서 *phyA*도 *Arabidopsis*의 하배축 신장 억제에 관여한다[8,15,23]. *Arabidopsis*의 *phyA*는 far-red light에서 wild type (WT)에 비해 하배축이 신장되었다. 다른 phytochromes (*phyC*, *phyD*, *phyE*) 또한 red light에서 하배축 신장 조절에 관여한다[13].

Ethylene은 가스 형태의 식물호르몬으로 식물 생장과 발달에 관여한다. 특히 열매나 꽃의 노화 및 성숙, 그리고 줄기나 뿌리의 신장을 억제하고 부피생장을 촉진한다[21]. Methionine은 S-adenosyl-L-methionine (AdoMet)으로 전환되고, AdoMet은 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase (ACS)에 의해 ACC로 전환되고, ACC는 ACC oxidase (ACO)에 의해 ethylene으로 전환된다[1].

빛은 종자 발아와 형태 발생과 같은 발달과정에 영향을 주는 매우 중요한 환경 자극의 하나이다[14]. 빛의 이러한 영향을 조절하기 위해서는 식물내부에서 식물호르몬의 생합성이나 수준의 변화가 일어나야 한다. 따라서 최근에는 빛이 식물 호르몬 생합성 과정에 어떻게 영향을 미치는지에 대한 연구가 많이 진행되고 있다[11]. 한편, 식물생장 발달은 식물호르몬의 상호작용으로 일어나는데, 특히 *Arabidopsis* 뿌리의 생장 억제는 ethylene이 auxin 생합성을 upregulate하여 일어난다고 보고되었다[22].

본 연구에서는 다양한 빛 조건에서 *Arabidopsis* phyto-

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5647, Fax : +82-54-820-7705
E-mail : kimsy@andong.ac.kr

chrome mutant의 뿌리에서 ethylene 생합성과 생합성에 관여하는 enzyme활성을 측정하여 phytochrome과 ethylene 작용과의 관계를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

식물 재료

Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*)의 Landsberg *erecta* (*Ler*) 생태형 유식물과 *phyA-201*, *phyB-1*, *phyA-201phyB-5* 돌연변이체 유식물[8]을 실험 재료로 사용하였다. 종자는 70%와 95% ethanol에서 각각 5분 동안 표면 살균을 한 후, 생장배지(1/2 MS salts, 1 mM MES buffer, pH 5.8, 1% [w/v] sucrose, 1% [w/v] agar)가 든 Petri dish (87x15 mm)에 일렬로 심었다. 4°C에서 하루 동안 저온 처리 한 후, Petri dish를 수직으로 세워 22°C, white light ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 아래에서 2일 동안 발아시켰다. 그리고 white light ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), red light (650~680 nm; $24 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), far-red light (710~740 nm; $1.3 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), dark 등 여러 빛 조건에서 5~6일 동안 키워 1.5~2.0 cm 로 자란 뿌리를 실험에 사용하였다. 광원은 Led Plant Radiation System (LPRS, GFPM-1600, Good Feeling, Korea)을 사용하였다.

Ethylene 생성 측정

빛의 영향을 없애기 위해 녹색 광이 켜 있는 암실에서 뿌리 절편(뿌리 끝에서부터 1 cm) 100개를 수거하여 완충용액(100 mM MES buffer, pH 6.8, 1.5 mM chloramphenicol)이 들어있는 vial에 넣고 실리콘 마개로 막은 후, 8시간 동안 진탕 배양(dark, 27°C, 170 rpm) 하였다. 2시간 간격으로 기체 1 ml을 채취한 후 Gas chromatography (Hewlett-Packard, HP5890 series II; 80/100 Porapak-Q column, oven temp: 120°C, injector temp: 150°C, detector temp: 280°C)를 이용하여 에틸렌 생성량을 측정하였다.

In vitro ACC Synthase (ACS) activity 측정

녹색 광이 켜 있는 암실에서 수거한 뿌리 절편 200개를 extraction buffer (250 mM MES buffer, pH 8.0, 10 μM pyridoxal phosphate, 1 mM EDTA, 2 mM PMSE, 5 mM DTT)로 분쇄한 후 원심 분리하여 상등액 0.2 ml에 5 mM AdoMet 20 μl 를 첨가한 다음, 실리콘 마개로 막고 1시간 동안 진탕 배양(dark, 22°C, 170 rpm) 하였다. 20 mM HgCl_2 용액과 냉각된 NaOH / NaOCl (포화된 NaOH : 5% NaOCl = 1 : 1 [v/v]) 용액으로 에틸렌 생성을 유도한 뒤 GC를 이용하여 ACS활성을 측정하였다.

In vitro ACC Oxidase (ACO) activity 측정

녹색 광이 켜 있는 암실에서 수거한 뿌리 절편 200개를 ex-

traction buffer (100 mM MES buffer, pH 7.5, 10% [v/v] glycerol, 30 mM Sodium ascorbate, 2 mM DTT)에서 분쇄하여 원심분리(4°C, 15,000 rpm) 한 후, 상등액에 incubation buffer (50 mM MES buffer, pH 7.5, 10% [v/v] glycerol, 30 mM Sodium ascorbate, 2 mM DTT, 30 mM NaHCO_3 , 50 μM FeSO_4 , 1 mM ACC)를 첨가하여 GC를 이용하여 측정하였다.

Total RNA 추출과 RT-PCR

녹색광이 켜 있는 암실에서 수거한 뿌리 절편 200개를 액체 질소와 함께 분쇄한 후, RNA extraction buffer (100 mM Tris-HCl, pH 9.0, 100 mM NaCl, 1% [w/v] SDS, 0.2% [v/v] 2-mercaptoethanol)를 첨가한다. 그리고 동일부피의 PCI (phenol : chloroform : isoamyl alcohol = 25 : 24 : 1 [v/v])를 첨가하여 잘 섞어준 후 50°C에서 10분 동안 반응시켰다. 25분간 원심분리(4°C, 13,000 rpm) 한 후 상등액을 취하여 동일부피의 CI (chloroform : isoamyl alcohol = 24 : 1 [v/v])를 첨가하였다. 이 과정을 2회 반복 수행하였다. 10 M LiCl을 2.5 M LiCl이 되도록 첨가하여 -20°C에서 1시간 동안 반응시키고 15분간 원심 분리하여 침전물을 수거하였다. 그 후 70% ethanol로 세척하고 건조시켜 0.1% [v/v] DEPC (Diethyl Pyrocarbonate)-DW 20 μl 에 녹여 total RNA를 획득 하였다. 추출한 total RNA는 Microplate Reader infinite[®]200 (TECAN, USA)를 이용하여 정량하였다.

추출한 total RNA를 주형으로 cDNA를 얻기 위해 역전사(RT, reverse transcription) AccuPower[™] RT PreMix (Bioneer, USA and Korea)를 사용하였고, 합성된 first-strand cDNA를 주형으로 하여 PCR (polymerase chain reaction) 과정을 수행하였다. PCR에 사용된 primer set는 Table 1과 같다. PCR을 위해 EmeraldAmp[™] PCR Master Mix (Premix, TaKaRa, Japan)를 사용하였으며, 모든 조건과 방법은 manual에 따라 실험을 하였다. PCR product는 1.8% agarose gel 상에서 분리하고 ethidium bromide (EtBr) 용액으로 염색한 후 gel image analysis system (CoreBio, i-MAX-D500, Korea)을 이용하여 촬영하였다.

데이터 분석

데이터의 통계적 분석을 위해 Sigma Plot software (v8.0,

Table 1. Gene-specific primers used for RT-PCR experiments

Genes	Sequences (5' to 3')	
<i>ACS12</i>	F	CATGCAACGGATGAGTAGAAAC
	R	CTTCCACGCTCTTCTCCATCA
<i>ACO2</i>	F	ATGACATGCTCAAGTCCAAAGG
	R	GTCCTTCCCAATCGACATCTT
<i>Actin2</i>	F	TATGGAAAAGATCTGGCATCACA
	R	GCGGGAGAGTTAAAGGTCTCAAA

SPSS)를 이용하였다. 모든 결과는 평균±표준오차(SE)로 표시하였고, $p < 0.05$ 유의성 검정을 위해 two-way ANOVA test와 Duncan method를 사용하였다.

결과 및 고찰

여러 빛 조건에서 키운 phytochrome mutants의 ethylene 생합성

식물 성장과 발달에 중요한 역할을 하는 phytochrome이 ethylene 생합성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 여러 빛 조건에서 키운 *phyA*, *phyB*, *phyAB*와 같은 phytochrome mutants에서 ethylene 생합성을 측정하였다.

White light에서 키웠을 때 phytochrome mutant에서 8시간 배양 후 ethylene 생합성은 억제되었다. 특히 double mutant인 *phyAB*의 경우 대조구와 비교하여 약 37%가 감소되었다. 그러나 dark에서 키웠을 때 *phyAB*는 대조구와 비교하여 약 10% 정도 감소되었다. Wild type (WT)도 white light와 비교하여 dark에서 약 30% 정도 감소하였다. 즉, 빛이 없는 상태에서 키웠을 때 mutant와 WT 모두 white light에서 키웠을 때와 비교하여 ethylene 생합성이 크게 감소하지 않았다 (Fig. 1). 이 결과는 빛이 ethylene 생합성을 조절하는 중요한 요인이라는 것을 제시한다. Red light에서 키웠을 때 다른 mutant들은 white light에서 키웠을 때와 비슷한 정도의 ethylene 생합성 감소 효과를 나타냈으나 *phyAB*는 WT와 비교하여 65% 정도 억제효과를 나타내었다(Fig. 1). Far-red light에서 키웠을 때 다른 mutant와는 달리 *phyB*는 ethylene 생합성이 감소하지 않았다(Fig. 1). Dark에서 키웠을 때를 제외하고 모든 빛 조건에서 단일 mutant보다 double mutant에서 ethylene 생합성이 크게 감소하였다. 이 결과는 ethylene 생합성에는 phytochrome A와 B 모두 중요한 작용을 한다는 것을 제시한다. Red light에서 phytochrome은 주로 P_{fr} 형태로 존재하는데, red light에서 키웠을 때 *phyA*와 *phyB*의 에틸렌 생성량이 차이가 없었다(Fig. 1). 그러나 far-red light에서 phytochrome은 주로 P_r 형태로 존재하며 far-red light에서 키웠을 때 *phyA*가 *phyB*에 비해 ethylene 생성이 약 30% 감소하였다. 이 결과는 P_r 형태의 phytochrome이 ethylene 생성량을 주로 조절한다는 것을 제시한다.

한편 Arabidopsis 유식물에서 낮은 강도의 빛과 비교하여 높은 강도의 빛에서 ethylene 생합성이 증가하였고, 같은 조건에서 *phyB-9*는 wild type (Col-0)에 비해 ethylene 생성이 더 증가하였다[25]. 또한 완두(*Pisum sativum*) 줄기에서 double mutant인 *phyAphyB*는 야생형보다 에틸렌 생성량이 증가하였고, internode의 길이도 짧고 비대해졌다. 특히 phytochrome A는 ethylene 생성을 조절하는데 중요한 역할을 한다고 제시하였다[5]. 일반적으로 뿌리와 하배축 혹은 줄기에서 ethylene 생성은 정반대로 나타나는 경향이 있으며, ethylene이 영향을

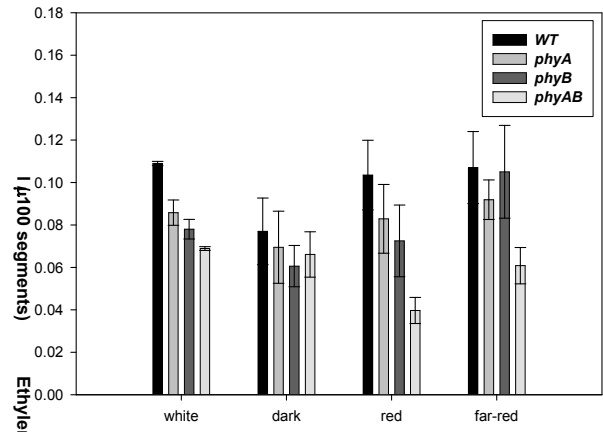


Fig. 1. Ethylene production of the wild-type and phytochrome mutants in the root segments of Arabidopsis at 8 hrs. The seeds were germinated in the white light for 2 days. The root segments were collected from the seedling grown for 5 to 6 days in the several light conditions such as white, dark, red light and far-red light. The ethylene production of mutants was decreased compared to WT. Bars represent the mean±SE, n=12.

주는 생리 반응도 조직에 따라 다르게 나타난다[1]. 따라서 식물의 기관이나 종류에 따라 어느 정도 차이는 있지만 phytochrome이 ethylene 생성에 영향을 미치며, 본 연구 결과에 따르면 Arabidopsis 뿌리에서 phytochrome이 ethylene 생성을 조절하여 생리 반응에 관여할 가능성을 제시하고 있다.

여러 빛 조건에서 키운 phytochrome mutants의 ACS와 ACO의 활성

여러 빛 조건에서 키운 각 phytochrome mutant의 ethylene 생합성의 감소 작용이 ethylene 생합성 과정 중 어느 단계가 조절되어 일어나는지 확인하기 위하여 AdoMet가 ACC로 전환되는 과정을 촉진하는 효소인 ACS와 ACC가 ethylene으로 전환되는 단계를 조절하는 ACO의 활성을 여러 빛 조건에서 키운 각 mutant와 WT에서 측정하였다.

White light에서 키웠을 때 8시간 배양 후 ACS 활성을 측정 한 결과, 각 mutant는 WT와 비교하여 활성이 감소하였다(Fig. 2). Double mutant의 경우 WT와 비교하여 약 55% 활성이 감소하였다. 다른 mutant들의 ACS 활성도 ethylene 생합성 패턴(Fig. 1)과 비슷한 양상으로 감소하였다(Fig. 2).

Dark에서 키웠을 때, 각 mutant의 ACS 활성은 ethylene 생합성과 같이 WT와 비교하여 거의 감소하지 않은 반면, Red light에서 키웠을 때, WT와 비교하여 *phyA*는 32.5%, *phyB*는 35% *phyAB*는 45% ACS 활성이 감소되었다(Fig. 2). Far red light에서 키웠을 때도 ACS 활성은 Red light에서 키웠을 때와 유사한 감소 패턴을 나타냈다. 이러한 감소 패턴은 ethylene 생합성의 감소 패턴과 동일한 양상을 나타냈다.

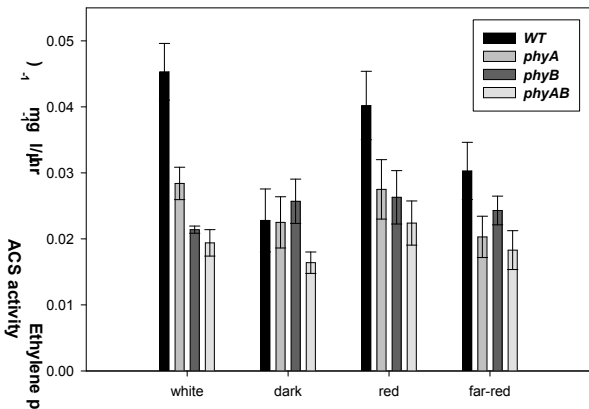


Fig. 2. ACC synthase activity in wild-type (WT) and phytochrome mutants of Arabidopsis at 8 hrs. The seeds were germinated in the white light for 2 days. The root segments were collected from the seedling grown for 5 to 6 days in the several light conditions such as white, dark, red light and far-red light. Bars represent the mean±SE, n=12.

8시간 배양 후 *in vitro*에서 ACO활성을 측정된 결과, 여러 빛 조건에서 키웠을 때 모두 WT와 mutant사이에 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 3). 특히 dark에서 키운 경우 *phyA*와 *phyB*가 WT보다 높은 ACO 활성을 나타내었고, *phyAB*는 WT와 거의 같은 수준의 활성을 보였다. 이 결과를 통하여 phytochrome은 ethylene 생합성 과정에서 AdoMet가 ACC로 전환되는 단계를 조절하여 ethylene 생합성을 조절한다는 것을 제시하고 있다.

최근 연구에 의하면 벼에서 phytochrome은 ACO 유전자를 조절하여 ethylene 생성을 조절한다고 알려져 있다. 특히 *phyB*가 ACO1을 조절할 가능성을 제시하였다[9]. 이들이 제시한 모델에 따르면 벼에서 *OsEREBP1*-like gene인 *EBL1*이 phytochrome B의 작용을 중재하여 ACO1 upregulation에 관여한다. 그러나 본 연구 결과에서는 phytochrome이 ACS를 조절하여 ethylene 생성을 조절할 가능성을 제시하고 있다. 이러한 차이는 단자엽인 벼의 줄기와 쌍자엽인 Arabidopsis뿌리와 같이 식물 종과 기관의 차이에 따른 것으로 판단된다. 그러므로 Arabidopsis의 뿌리에서 분자생물학적 수준의 연구가 앞으로 더 진행될 필요가 있다.

그리고 음지회피식물의 경우 phytochrome이 관여하여 줄기의 신장을 조절하는데, 이 조절과정에 ethylene이 관여할 가능성을 제시하였다[7]. 또한 담배에서 phytochrome이 관여하는 음지회피 반응에 ethylene과 gibberellin이 작용한다고 발표하였다[17]. 이러한 결과들과 본 실험의 결과를 종합적으로 판단할 때 phytochrome이 관여하는 식물생리 반응은 ethylene과 같은 식물호르몬을 통하여 조절할 가능성을 제시하고 있다.

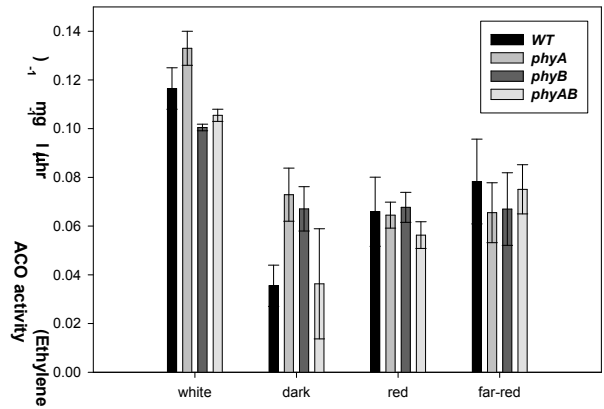


Fig. 3. ACC oxidase activity in wild-type (WT) and phytochrome mutants of Arabidopsis at 8 hrs. The seeds were germinated in the white light for 2 days. The root segments were collected from the seedling grown for 5 to 6 days in the several light conditions such as white, dark, red light and far-red light. Bars represent the mean±SE, n=12

여러 빛 조건에서 키운 phytochrome mutants의 ACS와 ACO의 유전자 발현

ACS 유전자들은 생장과 발달 그리고 다양한 스트레스 환경에 반응하여 뚜렷한 공간적 시간적 발현 패턴을 나타낸다[16,24,26]. ACS와 ACO는 모든 식물에서 다유전자족 family에 의해 암호화되며[2], Arabidopsis 유전체는 12개의 ACS 유전자와[26], 5개의 ACO 유전자들을 암호화 한다. 따라서 본 실험에서는 *ACS12*와 *ACO2* 유전자의 발현을 비교하였다.

Fig. 4에서 Arabidopsis의 phytochrome mutant와 WT의 뿌리에서 *ACS2*와 *ACO2* 유전자의 발현을 RT-PCR 증폭을 통해 확인한 결과, White light에서 키웠을 때, WT, *phyA*, *phyB*, *phyAB*의 순서로 *ACS12* 발현이 낮게 나타났고, *ACO2*는 발현의 차이가 나타나지 않았다. Dark에서 키운 경우 *phyAB*의 *ACS2* 발현이 WT와 다른 돌연변이체들에 비해 낮은 발현을 나타냈다. Red light에서 키운 경우에는 WT에 비해 mutant의 *ACS12*가 낮게 발현되었고, Far-red light에서 키운 경우에는 뚜렷한 발현 차이를 확인할 수 없었다. 또한 *ACO2*는 빛 조건과는 상관없이 WT와 mutant사이에 발현 차이를 보이지 않았다(Fig. 4). 이러한 발현의 차이는 Fig. 2와 Fig. 3에서 나타난 생화학적 enzyme activity의 패턴과 매우 유사하게 나타났다.

그러므로 이 결과는 Arabidopsis에서 ethylene 생합성 조절은 ACO보다는 ACS 유전자의 전사 수준이 감소되어 에틸렌 생합성 과정이 조절됨을 제시한다.

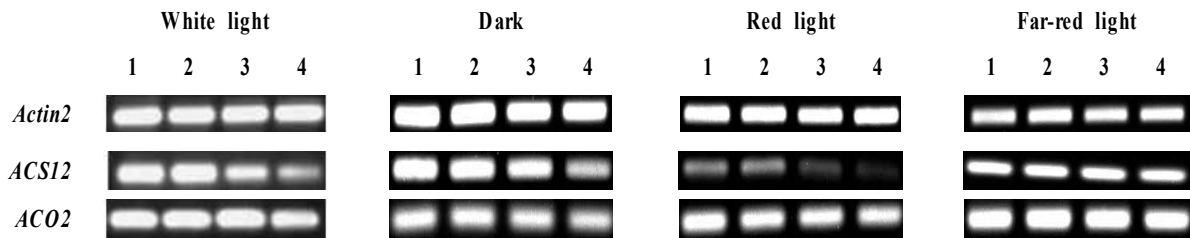


Fig. 4. RT-PCR analysis of ethylene biosynthesis enzymes in wild-type (WT) and phytochrome mutants of *Arabidopsis* roots grown in the several light conditions at 8 hrs. Total RNA was extracted from 5 to 6-days-old roots grown in several light conditions. Expressional level of the *ACS12* gene of *phyAB* mutant was inhibited compared to WT and other mutants, but *ACO2* gene did not show significant difference between WT and mutants in dark condition. Expressional level of the *ACS12* and *ACO2* gene did not show significant difference between WT and mutants in red light condition. Expressional level of the *ACS12* gene of mutants was inhibited compared to WT, but *ACO2* gene did not show significant difference between WT and mutants in far-red light condition. 1: WT, 2: *phyA*, 3: *phyB*, 4: *phyAB*

감사의 글

이 논문은 2008년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(KRF-2008-521-C00240).

References

- Abeles, F. B., Morgan, P. W. and Saltveit Jr, M. E. 1992. *Ethylene in Plant Biology*. pp. 37-55, 2nd eds., Academic Press, San Diego, California.
- Bleecker, A. B. and Kende, H. 2000. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Ann. Rev. Cell. Dev. Biol.* **16**, 1-18.
- Chen, M., Chory, J. and Fankhauser, C. 2004. Light signal transduction in higher plants. *Ann. Rev. Genet.* **38**, 87-117.
- Clack, T., Mathews, S. and Sharrock, R. A. 1994. The phytochrome apoprotein family in *Arabidopsis* is encoded by five genes: the sequences and expression of PHYD and PHYE. *Plant Mol. Biol.* **25**, 413-427.
- Foo, E., Ross, J. J., Davies, N. W., Reid, J. B. and Weller, J. L. 2006. A role for ethylene in the phytochrome-mediated control of vegetative development. *Plant J.* **46**, 911-921.
- Franklin, K. A., Davis, S. J., Stoddart, W. M., Viestra, R. D. and Whitelam, G. C. 2003. Mutant analyses define multiple roles for phytochrome C in *Arabidopsis thaliana* photomorphogenesis. *Plant Cell* **15**, 1981-1989.
- Franklin, K. A. and Whitelam, G. C. 2004. Light signals, phytochromes and cross-talk with other environmental cues. *J. Exp. Bot.* **55**, 271-276.
- Hennig, L., Stoddart, W. M., Dieterle, M., Whitelam, G. C. and Schäfer, E. 2002. Phytochrome E controls light-induced germination of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **128**, 194-200.
- Iwamoto, M. and Takano, M. 2011. Phytochrome-regulated *EBL1* contributes to *ACO1* upregulation in rice. *Biotechnol. Lett.* **33**, 173-178.
- Kiss, J. Z., Mullen, J. L., Correll, M. J. and Hangarter, R. P. 2003. Phytochromes A and B mediate red-light-induced positive phototropism in roots. *Plant Physiol.* **131**, 1411-1417.
- Lau, O. S. and Deng, X. W. 2010. Plant hormone signaling lightens up: integrators of light and hormones. *Curr. Opin. Plant Biol.* **13**, 571-577.
- Monte, E., Alonso, J. M., Ecker, J. R., Zhang, Y., Li, X., Young, J., Austin-Phillips, S. and Quail, P. H. 2003. Isolation and characterization of phyC mutants in *Arabidopsis* reveals complex cross-talk between phytochrome signalling pathways. *Plant Cell* **15**, 1962-1980.
- Neff, M. N., Fankhauser, C. and Chory, J. 2000. Light: indicator of time and place. *Genes Dev.* **14**, 257-271.
- Nemhauser, J. L. 2008. Dawning of a new era: photomorphogenesis as an integrated molecular network. *Curr. Opin. Plant Biol.* **11**, 4-8.
- Parks, B. M. and Spalding, E. P. 1999. Sequential and coordinated action of phytochromes A and B during *Arabidopsis* stem growth revealed by kinetic analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 14142-14146.
- Peng, H. P., Lin, T. Y., Wang, N. N. and Shih, M. C. 2005. Differential expression of genes encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in *Arabidopsis* during hypoxia. *Plant Mol. Biol.* **58**, 15-25.
- Pierik, R., Cuppens, M. L. C., Voesenek, L. A. C. J. and Visser, E. J. W. 2004. Interaction between ethylene and gibberellins in phytochrome-mediated shade avoidance responses in tobacco. *Plant Physiol.* **136**, 2928-2936.
- Reed, J. W., Nagatani, A., Elich, T. D., Fagan, M. and Chory, J. 1994. Phytochrome A and phytochrome B have overlapping but distinct function in *Arabidopsis* development. *Plant Physiol.* **104**, 1139-1149.
- Ruppel, N. J., Hangarter, R. P. and Kiss, J. Z. 2001. Red-light-induced positive phototropism in *Arabidopsis* roots. *Planta* **212**, 424-430.
- Sharrock, R. A. and Clack, T. 2002. Patterns of expression and normalized levels of the five *Arabidopsis* phytochromes. *Plant Physiol.* **130**, 442-456.
- Smalle, J. and Van Der Straeten, D. 1997. Ethylene and vegetative development. *Physiol. Plant* **100**, 593-605.
- Swarup, R., Perry, P., Hagenbeek, D., Van-Der-Straeten, D.,

- Beemster, G. T., Sandberg G., Bhalerao, R., Ljung, K. and Bennett, M. J. 2007. Ethylene upregulates auxin biosynthesis in Arabidopsis seedlings to enhance inhibition of root cell elongation. *Plant Cell* **19**, 2186-2196.
23. Takano, M., Kanegae, H., Shinomura, T., Miyao, A., Hirochika, H. and Furuya, M. 2001. Isolation and characterization of rice phytochrome A mutants. *Plant Cell* **13**, 521-534.
24. Tsuchisaka, A. and Theologis, A. 2004. Unique and overlapping expression patterns among the Arabidopsis 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase gene family members. *Plant Physiol.* **136**, 2982-3000.
25. Vandenbussche, F., Vriezen, W. H., Smalle, J., Laarhoven, L. J., Harren, F. J. and Van-Der-Straeten, D. 2003. Ethylene and auxin control the Arabidopsis response to decreased light intensity. *Plant Physiol.* **133**, 517-527.
26. Yamagami, T., Tsuchisaka, A., Yamada, K., Haddon, W. F., Harden, L. A. and Theologis, A. 2003. Biochemical diversity among the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase isozymes encoded by the Arabidopsis gene family. *J. Biol. Chem* **278**, 49102-49112.

초록 : *Arabidopsis* 피토크롬 돌연변이체에서 ethylene 생합성 조절 작용

박지혜 · 김순영*

(안동대학교 생명과학과)

식물생장과 발달에 중요한 역할을 하는 phytochrome이 ethylene 생합성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 여러 빛 조건에서 키운 phyA, phyB, phyAB에서 ethylene 생합성과 생합성에 관여하는 enzyme activity를 측정하였다. White light에서 키웠을 때 모든 mutant에서 ethylene 생합성이 감소되었다. 특히 double mutant에서는 wild type과 비교하여 37%가 감소하였다. Dark에서 키웠을 때에는 wild type만 감소하였고, mutant에서는 감소 효과가 나타나지 않았다. Red light에서 키웠을 때 double mutant에서 급격한 감소가 일어났다. Far-red light에서 키웠을 때는 phyB만 감소가 일어나지 않았다. Ethylene 생합성에 관여하는 enzyme인 ACO 활성 패턴과는 달리 ACS 활성 패턴은 ethylene 생성 패턴과 유사하게 나타났다. 이 결과를 바탕으로 ethylene 생합성에는 phytochrome A와 B 모두 중요한 작용을 하며 특히 P₁ 형태의 phytochrome이 ethylene 생성량을 조절한다는 것을 제시한다. 또한 phytochrome은 ethylene 생합성 단계에서 AdoMet가 ACC로 전환되는 단계에서 조절하는 것을 제시한다.