E214 Identification of Sterols and BRs in Marchantia polymorpha.

Young-Soo Kim*, Kwang-Seok Han and Seong-Ki Kim
Department of Life Science, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

The presence of brassinosteroids(BRs), a collective name of steroidal plant hormones, in lower plants has been already demonstrated in a green alga and a fern. Thus, liverworts which are higher than algae would be expected to contain BRs. To vertify that, we investigated BRs and their biosynthetic precursors in a liverworts, *Marchantia polymorpha* in this study. Brassinolide, castasterone, and 6-deoxocastasterone were identified by a full-scan GC-MS. In addition, the presence of campesterol and campestanol, biosynthetic precursors of endogenous BRs, was demonstrated. These results strongly suggest that BRs in M. polymorpha are biosynthesized from campesterol via the late-C6 oxidation pathway as established in higher plants.

E215 Involvement of 42-kD Protein Kinase in Gravitropic Response of Maize Roots

Jin Young Lee[2], Soo Chul Chang[1], Seong-Ki Kim[1*] and June Seung Lee[2]
[1]Department of Life Science, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea; [2] Department of Biological Science, Ewha Woman's Uiversity, Seoul 120-750, Korea

The early kinetics and presentation time of BR-induced grvitropic response of maize primary roots suggested that BR may be involved in the gravity-signal-transduction pathway. To test the possibility, effect of protein kinase inhibitors on BR-induced gravitropic response was examined. Both staurosporin and H-89 inhibited the BR-induced gravitropic response. Next, involvement of protein kinase in gravitropic response, in gel kinase assay was performed. A 42-kD protein showed more kinase activity in lower halves than upper halves. The differential kinase activity was nullified when brassinazole(a brassinosteroid biosynthetic inhibitor) was applied, indicating that BR is involved in the regulation of the 42-kD protein kinase during gravitropic response of maize primary roots.

E216 Castasterone is the End Product of Brassinosteroid Biosynthesis in Shoots of Maize.

Hyun-Hee Park* and Seong-Ki Kim
Department of Life Science, Chung-Ang University, Seoul, 156-756, Korea

We have previously demonstrated that shoot of maize contained 6-deoxocastasterone(6-deoxoCS), castasterone(CS) but not brassinolide(BL). In addition, BL synthase which converts CS to BL was absent in the shoots. These suggested that brassinosteroids in the shoots is biosynthesized by the late C6-oxidation pathway, but the end product of the pathway is not BL but CS. To confirm that, metabolism of $[^2H_6]$-/$[^2H_0]$-CS in the shoots was examined using enzyme solution prepared from the shoots. As expected, $[^2H_6]$-and $[^2H_0]$-CS was differently converted into $[^2H_3]$-28-norCS and $[^2H_0]$-26-norCS respectively, which is the same deactivation reaction shown in plants which contain BL as the most active BR. Therefore, it is conclusive that CS is the most active BR as the end product of BRs biosynthesis in the maize shoots.

E217 26-Norbrassinolide as Brassinolide Metabolite in Suspension Cultured Cells of *Phaseolus vulgaris*

Se-Hwan Joo*, Tae-Wuk Kim and Seong-Ki Kim
Department of Life Science, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Metabolism of brassinolide(BL) was investigated in cultured cells of *P. vulgaris*. Interpretation of GC-MS data of the metabolite obtained by feeding BL suggested that either 26- or 28-methyl of BL was eliminated. Direct GC-MS comparison of the metabolited to synthetic 28- and 26-norBL provided the position of demethylation was at C26. Therefore the metabolite was identified as 26-norBL. Recently, in tomato cells, 26-hydroxylBL was identified as a BL metabolited, suggesting that 26-norBL is expected to be formed by decarboxylation via a 26-hydroxyl → aldehydic → carboxylic BL

E218 S-adenosylmethionine decarboxylase 유전자 발현의 translational 조절에 관한 연구

최유진*, 박기영
순천대학교 자연과학대학 생물학과

S-adenosylmethionine decarboxylase (SAMDC ; EC4.1.4.50)는 폴리아민 생합성을 조절하는 key enzyme 중 하나이다. 카네이션 SAMDC 유전자는 5'-untranslated region (UTR)에 각각 52개와 54개의 아미노산으로 이루어진 upstream open reading frame (uORF)이 존재하며 실재 이 단백질이 형성되어 해독억제작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 uORF protein이 SDS-PAGE에서 5.8 kDa의 peptide를 합성하며, native PAGE에서는 어떠한 components가 uORF protein과 결합한다는 사실을 확인하였다. Reporter gene GUS를 이용한 실험에서는 0.001mM, 0.01mM, 0.1mM, 1mM, 10mM 의 농도로 폴리아민을 처리했을 때 보편적으로 GUS 활성이 감소하였고, Put보다는 Spd 과 Spm에서 억제 효과가 두드러졌다. 이것은 *in vitro* transcription/translation 반응을 통해서도 마찬가지였다. 또한 SAMDC 유전자의 uORF를 point mutation시킨 transgenic plant 에서 GUS가 강하게 발현되었다. Nothern blot analysis 결과에서는 mRNA의 stability 가 달라졌으며, uORF에 의해서 mRNA의 양이 급격하게 억제되었다. 따라서 이러한 결과들은 uORF가 *in trans* 에서 translational inhibitor로 작용하는 것을 보여준다.

E219 빛과 호르몬에 의한 S-adenosylmethionine decarboxylase의 조절에 관한 연구

박나리*, 박기영
순천대학교 자연과학대학 생물학과

폴리아민은 식물뿐 아니라 동물, 미생물에도 존재하는 양이온성의 작은 물질로서 식물에서는 식물의 생장, 발달과정과 과일의 성숙, 노화에까지 관여하는 식물 생장 조절물질로서 *S*-adenosylmethionine decarboxylase (SAMDC ; EC 4.1.1.50)는 폴리아민을 생합성하는 과정에 관여하는 key enzyme이다. SAMDC는 빛에 의해서 발현이 증가되는데 나팔꽃 유식물(*Pharitis nil*)과 애기장대(*Arabidopsis thaliana*), 카네이션(*Dianthus caryophyllus* L.)에서 이를 확인하였다.300 mole m^{-2} S^{-1}의 백색광을 처리하면 식물종에 따라 약간의 차이를 보이지만 3시간에서 4시간까지 증가하다가 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 빛을 20 mole m^{-2} S^{-1} 에서 1000mole m^{-2} S^{-1} 까지 세기로 처리한 결과 약한 빛에서 보다는 강한 빛에서 SAMDC의 효소활성이 증가하였다. 이러한 빛에 의한 발현에 광수용체가 관여하는지 알아보기 위하여 백색광, 청색광, 적색광, 원적외선을 처리한 결과 백색광에서 가장 큰 활성을 보였고 청색광과 적색광도 효과가 있었다. 하지만 원적외선의 경우에는 큰 영향은 보이지 않았다. 또 나팔꽃 유식물(*Pharitis nil*)을 일정한 광주기로 키운 후 각 시간마다 SAMDC 활성을 조사하여 본 결과 일주기성을 관찰할 수 있었다. 그리고 카네이션(*Dianthus caryophyllus* L.)에 100M IAA, Kinetin, ABA, GA등의 호르몬을 처리하고 0, 3, 6, 12, 24시간 간격으로 SAMDC 효소활성 및 유전자 발현을 측정한 결과 12시간에서 24시간까지 점차적으로 증가한 것을 볼 수 있었다. 따라서 폴리아민이 생리적 작용을 나타내는 과정에서 다른 식물호르몬들과의 상호작용이 존재하는 것으로 생각된다.

E220 폴리아민 함량이 증가된 형질전환 담배 식물체에서의 스트레스 관련 신호전달 및 항산화효소 유전자의 발현에 관한 연구

위수진*, 박기영
순천대학교 자연과학대학 생물학과

폴리아민 생합성 효소인 *S*-