

더덕에서 Nucleoside Diphosphate Kinase 1 분리 및 분석

김종학, 양덕춘^{1)*}

(주)바이오피아, ^{1)*}경희대학교 생명과학대학 및 한방재료가공센터

Isolation and Characterization of Nucleoside Diphosphate Kinase 1 of *Codonopsis lanceolata*

Jong-Hak Kim, Deok-Chun Yang^{1)*}

Biopia Co., Ltd, Yongin 449-701, Korea

^{1)*}College of Life Science & Center for Oriental Medicinal Materials and
Processing, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea

ABSTRACT

The NDK1 is an ubiquitous enzyme that transfer phosphate groups from triphosphate nucleoside diphosphates(NDPs) in eukaryotes and prokaryotes. We isolated and characterized a cDNA encoding a nucleoside diphosphate kinase 1(*CNDK 1*) in *Codonopsis lanceolata*. The *CNDK 1* is 444bp long and open reading frame of 447bp with a deduced amino acid of 148 residue. The *CNDK 1* has an ATP binding site in 12~16 residue and phosphohistidine intermediate in 115 residue of amino acid sequence. Although several NDK 1 genes have been cloned in plants, but little is known about the functional significance of this enzyme during plant growth and development. The *CNDK 1* shows the identities to *Arabidopsis thaliana* (71%), *Oryza sativa* (75%), *Glycine max* (79%), *Brassica rapa* (77%), *Mesembryanthemum crystallinum* (85%), *Spinacia oleracea* (83%), *Pisum sativum* (82%). The *CNDK 1* of *C. lanceolata* have a closer relationship of *Glycine max* and *Pisum sativum* at the phylogenic analysis.

Key words : ubiquitous enzyme, ATP binding site, phosphohistidine

서언

더덕(*Codonopsis lanceolata*) 초롱꽃과에 속하는 다년생 덩굴성 식물이며, 인도와 동아시아에 약 40 종이 분포하고 있으며 우리나라에는 약 4종이 자생하고 있다(Shin and Park, 2000). 근경을 건조한 것을

한국, 일본, 중국 등에서 약용 및 식용으로 이용된다. 최근에 더덕의 수요가 급증하고 있으나 품종개량을 위한 연구가 거의 이루어지지 않고 있다. 더덕에는 단백질(2.3%), 지방(3.5%), 탄수화물(10.9%)등 이 함유되어 있어 자양강장제로 이용되거나 채소작물로써 저 칼로리 식품으로의 개발 가능성이 높아 재배

*교신저자 : E-mail : dcyang@khu.ac.kr

농가의 중요한 작물로 분류하고 있다. 또한 한방에서는 사삼(沙蔘)의 대용으로 거담 약으로 주로 사용하고, 그 외 강장, 해독, 배농 및 소종 등에 사용된다(Lee, 1980). 더덕의 뿌리는 인삼과 비슷한 형태를 하며 약효성분으로는 saponine, vitamine B1과 B2, inuline, triterpene, steroid, flavonoid 등이 함유 되어있다(Chung and Na, 1977; Lee, 1984; Sin *et al.*, 1991). 최근에 더덕의 수요가 급증하고 있으나 품종개량을 위한 연구가 거의 이루어지지 않고 있으며 다만 체세포 배발생 경로를 이용한 식물체 재분화 시스템이 확립된 바 있다(Min *et al.*, 1992). 더덕의 재배는 수익성이 높고 재배면적도 증가하지만 수요를 만족시킬 만큼 공급이 따르지 못하고 있다. 또한 재배상의 어려운 점은 병충해, 기계수확에 의한 대규모 재배를 더욱더 곤란하게 하고 있는 실정이다. 이러한 문제점 및 환경적 스트레스에 저항하여 자랄 수 있는 식물체를 얻기 위해 더덕의 cDNA를 분석하여 스트레스 관한 유전자 Nucleoside diphosphates kinase 1(NDK 1)을 얻어내었다.

본 연구에서는 더덕의 뿌리로부터 분리된 Nucleoside Diphosphate Kinase 1이 토양 오염 및 환경 스트레스에 대한 발현양상 등 여러 가지 스트레스에 대해서 어떻게 발현을 하는지 연구하고 나아가 더덕에 재도입함으로써 내재해성 더덕을 생산하는 것을 목적으로 수행하였던 바, 얻어진 결과를 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

식물 재료

본 실험에서는 충남농업기술원에서 재배된 4년생 더덕(*Codonopsis lanceolata* Bent. et Hook)의 주근을 사용하였다.

RNA 추출과 cDNA library의 제작

Aqueous phenol extraction 방법(Morris *et al.*, 1990)을 사용하여 더덕의 주근으로부터 전체 RNA를 추출하였다. cDNA를 합성하는 과정은 공급자 매뉴얼

을 따라 cDNA synthesis kit (Clontech, SMART cDNA library construction kit, USA)를 이용하여 수행하였다.

DNA 및 단백질 서열 분석

λ pTriplEx2 에서 pTriplEx plasmid들을 분리하여 염기 서열 분석을 위한 template로 사용하였다. 무작위적으로 선별된 cDNA insert 들의 5' 영역을 벡터 특이적인 시퀀싱 프라이머를 이용하여 automatic DNA sequencer (ABI prism 3700)로 sequencing 하였다. 분석된 EST clone들의 기능 동정은 NCBI의 blastx프로그램을 사용하여 GeneBank의 중복되지 않은 단백질 database와의 비교를 통해 이루어졌다. 뉴클레오타이드와 아미노산의 서열 분석 및 비교는 DNASISMAX(Hitachi), Clustal X(ver 1.64b) 프로그램을 사용하였으며, 분석된 염기 서열의 비교는 NCBI의 DNA와 아미노산 database를 바탕으로 blast 연산(Altschul *et al.*, 1990)을 통해 수행되었다.

RT-PCR 분석

더덕의 *CINDK 1* 유전자의 발현 분석을 위하여 더덕 캘러스, 잎, 줄기, 뿌리로부터 전체 RNA를 추출하였다(easy BLUE™ RNA Extraction kit, iNtRON). oligodT(18mer)를 프라이머로 RNA를 역전사시켜 cDNA를 합성(Promega)한 후, *CINDK 1*에 특이적인 프라이머를 이용하여 유전자의 ORF 부분은 증폭하였다. Control로 actin을 사용하였으며, PCR 증폭은 94℃, 5분을 개시로 94℃ 30초, 54℃ 30초, 72℃ 1분 30초의 25 cycle 조건으로 하였다. PCR을 위한 *CINDK 1* 유전자의 특이적인 프라이머는 ORF 내에서 디자인 하였고 sense 프라이머(5-ATG GAG CAG ACT TT TA TCA TGA TCA A-3) 및 antisense 프라이머(5-TCA TTC ATA GAT CCA AGA GTG AAG G-3)를 사용하여 PCR을 수행하였다(Top-pfu™, bio-online).

결과 및 고찰

4년생 더덕의 주근으로 제작된 cDNA library로부터 647bp의 CINDK1 유전자를 얻어내었다. 더덕에

서 분리한 이 시퀀스는 Arabidopsis thaliana (71%), Oryza sativa (75%), Glycine max (79%), Brassica rapa

```

1  atcatttctgctgcttctaacctcaaaccgaaagagactactagctgcaaaatcatcac
61  agaaacaacgATGGAGCAGACTTTTATCATGATCAAGCCTGATGGTGTCCAAAGAGGCTT
1      M E Q T F I M I K P D G V Q R G L
121  GGTGTTGAGATCATTAGTAGATTTGAGAAGAAAGGTTTCTTGTGAAAGGTTTGAAGCT
18   V G E I I S R F E K K G F L L K G L K L
181  CTTGAATGTGGAACAATCTTTTGCCGAGAAGCATTATGCAGACCTTTCTGCAAAGCCGTT
39   L N V E Q S F A E K H Y A D L S A K P F
241  CTTCCGGGGGCTTGTGAGTACATTGTCTCTGGCCCTGTTGTTGCCATGGTTTGGGAAGG
59   F G G L V E Y I V S G P V V A M V W E G
301  TAAGGGAGTTGTGAAAACCTGGAAGGACAATCATTGGTGGCACAACCCTGCTGCCTCTGC
79   K G V V K T G R T I I G A T N P A A S A
361  TCCTGGCACCATCCGTGGTGATTTTGCTATTGACATTGGCAGGAATGTCATTTCATGGGAG
99   P G T I R G D F A I D I G R N V I H G S
421  TGATGCTGTTGAGAGTGCAACTAAAGAGATTGCTCTCTGGTCCCGGAAGGTGTTGCTAA
119  D A V E S A T K E I A L W F P E G V A N
481  CTGGCAGAGCAGCCTTCACTCTTGGATCTATGAATGAgaaatgcattcttatgttgagctt
139  W Q S S L H S W I Y E *
541  ttattacatggttggttatggttattcctttaagggatcatatgaattttgactgattga
601  acttattatggttattatggttttagtcttcttgtaaaaaaaaaaaaa
    
```

Fig. 1. The nucleotide sequence of *CINDK 1* gene. Underline indicated PCR primer.

```

Codonopsis : --EQTFFIMKDPGCVPLVGGRIISVHIEGHSNGLKHPNOCFFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 74
Spinacia   : --EQTFFIMKDPGCVPLVGGRIISVHIEGHSNGLKHPNOCFFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 74
Oryza      : MAEQTFFIMKDPGCVPLVGGRIISVHIEGHSNGLKHPNOCFFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 76
Glycinemax : -MVEQTFFIMKDPGCVPLVGGRIISVHIEGHSNGLKHPNOCFFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 75
Pisum      : -MAEQTFFIMKDPGCVPLVGGRIISVHIEGHSNGLKHPNOCFFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 75
Brassica   : --EQTFFIMKDPGCVPLVGGRIISVHIEGHSNGLKHPNOCFFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 74
Arabidopsi : --EQTFFIMKDPGCVPLVGVKSEAGLPE-RVSLGKRLTSDVFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 73
Nesembryan : --EQTFFIMKDPGCVPLVGVKSEAGLPE-RVSLGKRLTSDVFAHHTADLSAHPFPCGLDYTISGIUVANI : 73
    
```



```

*
Codonopsis : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 148
Spinacia   : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 148
Oryza      : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 151
Glycinemax : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 149
Pisum      : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 149
Brassica   : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 148
Arabidopsi : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 148
Nesembryan : WEEDCVLTIKELIGATNFAASRPGTIPGDFPAIDICNVINGSDAVYEAHNEIALVFPFPCPVYDQESHSQVTE- : 148
    
```

Fig. 2. Comparison of the amino acid residues among NDK1 isolated in other species. Identical amino acids are shown in white against black. The square is a ATP binding site. The histidine residue at the putative active is masked with an asterisk. Arrowhead shows a serine phosphorylation.

(77%), *Mesembryanthemum crystallinum*(85%), *Spinacia oleracea* (83%), *Pisum sativum* (82%) 등 다른 식물체에서 밝혀진 NDK1과 높은 유사성을 가지고 있다(Table1).

전체 시퀀스 647bp를 보면 3' 쪽에 635bp 부터 12개의 많은 아데닌 시퀀스가 존재하는 것을 볼 수 있고, 71bp를 시작코돈으로 하여 515bp TGA의 종결코돈으로 하는 NDK1 전체 시퀀스의 clone을 얻어 내었고, 전체 647bp의 시퀀스로부터 148개의 아미노산을 가진 Open Reading Frame(ORF)를 얻어내었다 (Fig. 1). 148개 아미노산의 ORF를 분석하여 보면

12~16번째 아미노산의 ATP binding 위치(Matsushita *et al.*, 2002)를 가지고 있고 115번째 아미노산은 다른 식물체에서도 공통적으로 나타내는 phosphohistidine intermediate(Gilles *et al.*, 1991)가 존재한다.

Serine phosphorylation은 촉매를 활성화 하는 효소의 기능을 갖는다고 알려져 있는데(McDonald *et al.*, 1993; Otero *et al.*, 1999), 우리가 얻어낸 아미노산을 보면 67번째와 117번째에 serine이 위치하고 있으며 (Fig. 2), 사람에서 Nm23-H1에는 44번째 serine phosphorylation가 위치하고(McDonald *et al.*, 1993),

Table 1. List of NDK 1 registered at other plants.

Species	Gene	Amino acid residue	Nucleotide identity(%)	GeneBank accession No.	Lineage
<i>Codonopsis lanceolata</i>	<i>CINDK 1</i>	148			Plant
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>NDPK 1</i>	148	71	AF077641	Plant
<i>Oryza sativa</i>	<i>NDKR</i>	151	75	D16292	Plant
<i>Glycine max</i>	<i>NDK 1</i>	149	79	Q39839	Plant
<i>Brassica rapa</i>	<i>BcNDK 1</i>	148	77	AB071599	Plant
<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	<i>NDK 1</i>	148	85	O81372	Plant
<i>Spinacia oleracea</i>	<i>NDPK 1</i>	148	83	D10659	Plant
<i>Pisum sativum</i>	<i>NDPK 1</i>	149	82	AF191098	Plant

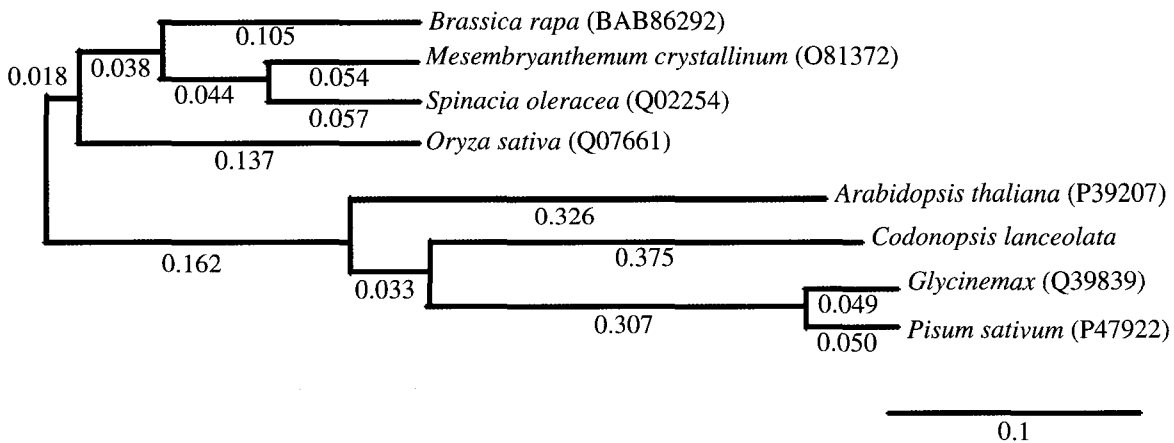


Fig. 3. Phylogenetic tree of *NDK 1* gene based on the nucleotide sequence. Phylogenetic analysis is based on the deduced amino acid sequences of *NDK 1* from various species. The tree was generated by ClustalW (ver. 1.4) and phylogenetic tree (DNASIS MAX ver. 1.0). The cDNA sequences used for amino acid translation was retrieved from GenBank. The respective accession number is described next to plant name.

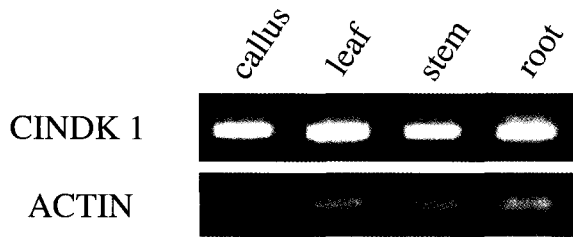


Fig. 4. Expression of *CINDK 1* in *codonopsis lanceolata*.

우리가 분석한 아미노산에는 serine이 아니라 glutamic acid가 위치하고 있다.

더덕의 NDK1과 여러 가지 식물의 NDK1의 아미노산의 아미노산 서열을 DNASISMAX(Hitachi) 프로그램 사용하여 계통발생적으로 비교해 보면 크게 두 그룹으로 나눌 수 있는데 *C. lanceolata*는 *G. max*과 가장 가깝고 *P. sativum*과 *A. thaliana*의 순으로 가까운 것을 볼 수 있다(Fig. 3).

더덕의 각 조직에서 나타나는 *CINDK 1*의 발현을 확인하기 위해 캘러스, 잎, 줄기, 뿌리 조직의 전체 RNA를 추출하여 cDNA를 합성하고 PCR을 수행하였다. RT-PCR 분석 결과, *CINDK1*은 조직 특이성 없이 캘러스, 잎, 줄기, 뿌리 조직에 대해서 모두 발현이 되었으며, 발현량 역시 큰 차이 없이 모든 조직에서 동일하게 발현 되었다(Fig. 4). 모든 조직에서 발현되는 NDKs는 스트레스에 대해서 저항성을 가진다고 보고된 바 있으며 지금도 많은 연구가 진행되고 있다(Martha *et al.*, 2001). NDKs는 식물에서 여러 가지 기능을 가지고 있다. 예를 들면, *Spinach* (Nomera *et al.*, 1992), Pea (Finan *et al.*, 1994), tomato (Harris *et al.*, 1994), oat (Sommer and Song, 1994)에서 식물이 성장하고 진화하는 동안에 발현이 된다고 알려져 있고, 최근에도 많은 연구가 진행되고 있으며, 원핵생물이나 진핵생물 어디에서나 발현되고 있는 효소이다. 또한, *Pisum sativum*에서 NDK 1은 Finan에 의해서 cloning 되었으며(Finan *et al.*, 1994), 세포 안에서 nucleoside triphosphate를 조절하는 중요한 필수 유전자(Park and Agarwal, 1973)이고, *Pisum sativum* L. cv. Alaska에서는 붉은 빛의 신호를 감지하는

phytochrome에 중간 매개물질로 작용하고(Tanaka *et al.*, 1998), *Pisum sativum* L. cv. Golf의 엽록체에는 1900배의 많은 NDK가 존재하며(Lubeck and Soll, 1995), 또한 쌀의 자엽초가 성장하는데 NDK가 요구된다고 보고된 바 있다(Ling *et al.*, 2000). 또한 최근 연구 결과에 의하면 세포의 증식을 조절하는 기능(Cipollini *et al.*, 1997), 전사를 조절하는 기능(Postel *et al.*, 1993), 인산기의 전이를 촉매하는 단백질(Engel *et al.*, 2000)등 NDKs는 동물의 생체 성장 과정에도 관련되어 있다고 한다. 식물에서는 phytochrome B의 반응(Choi *et al.*, 1999), UV-B 빛의 신호전달(Zimmermann *et al.*, 1999), 호르몬 반응(Nato *et al.*, 1997; Nevikava *et al.*, 1999)과 관련되어 있다고 보고되었다. *Arabidopsis thaliana*에서는 H₂O₂의 스트레스에 대해서 NDK 2가 발현되므로 인한 산소 스트레스인 활성산소(ROS) 즉, superoxide (O₂), hydrogen peroxide (H₂O₂), hydroxyl radicals (OH)의 활성이 줄어들고 환경적 스트레스(H₂O₂)에 대해 NDK 1의 발현이 증가된다고 보고되었다(Moon *et al.*, 2003). 현재 NDK 1에 대해서는 H₂O₂의 스트레스에 대한 연구 결과(Moon *et al.*, 2003)만 보고된 바 있고, 다른 스트레스 저항성에 대한 연구결과는 보고된 것이 없다. 위의 결과를 바탕으로 더덕의 *CINDK1*의 스트레스 저항성에 대해서 지속적으로 연구를 수행할 것이다.

적요

더덕의 재배는 수익성이 높고 재배면적도 증가하지만 수요를 만족시킬 만큼 공급이 따르지 못하고 있다. 또한 재배상의 어려운 점은 병충해, 기계수확에 의한 대규모 재배를 더욱더 곤란하게 하고 있는 실정이다. 이러한 문제점 및 환경적 스트레스에 저항하여 자랄 수 있는 식물체를 얻기 위해 더덕의 cDNA를 분석하여 스트레스 관한 유전자 Nucleoside diphosphates kinase 1 (NDK 1)을 분리하여 분석하여 148개의 아미노산 서열과 다른 식물체들의 NDK 1과 높은 유사성을 가진다는 것을 알았고, 더덕의 각

조직에서 나타나는 *CINDK 1*의 발현을 알아보기 위해 캘러스, 잎, 줄기, 뿌리 조직의 전체 RNA를 추출하여 cDNA를 합성하고 PCR을 수행하였다. RT-PCR 분석 결과, *CINDK1*은 조직 특이성 없이 캘러스, 잎, 줄기, 뿌리 조직에 대해서 모두 발현이 되었으며, 발현량 역시 큰 차이 없이 모든 조직에서 동일하게 발현되었다. NDKs는 환경 스트레스에 저항성을 가진다고 알려져 있지만 NDK 1 대한 연구는 아직까지 부족한 상태이다. 우리는 더덕에서 분리한 *CINDK1*의 스트레스 저항성에 대해서 지속적으로 연구를 수행할 것이다.

사사

본연구는 농진청 Biogreen 21사업의 특용작물사업단의 연구지원금에 의해서 수행되었으며 이에 대해 심심한 감사를 표하는 바이다.

인용문헌

- Altschul, S.F., W. Gish, W. Miller, E.W. Myers and D.J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:403-410.
- Choi, G., H. Yi, J. Lee, Y.K. Kwon, M.S. Soh, B. Shin, Z. Luka, T.R. Hahn and P.S. Song. 1999. Phytochrome signalling is mediated through nucleoside diphosphate kinase 2. *Nature* 401:610-613.
- Chung, B.S. and D.S. Na. 1977. Studies on the terpenoid component of the roots of *Codonopsis lanceolata* Bent. et Hook, *Kor. J. Pharmacog* 8:pp49.
- Cipollini, G., A. Berti, L. Fiore, G. Raimaldi, F. Basolo, G. Merlo, G. Bevilacqua and M. Caligo. 1997. Dawn-regulation of the *nm23.h1* gene inhibits cell proliferation. *Int J Cancer* 73:297-302.
- Engel, M., M. Veron, B. Theisinger, M-L. Lacombe, T. Seib, S. Dooley and C. Welter. 1995. A novel serine/threonine specific phospho-transferase activity of Nm23/nucleoside diphosphate kinase. *Eur J Biochem* 234:200-207.
- Finan, P.M., I. White, S. Redpath, J. Findlay and P. Miller. 1994. Molecular cloning, sequence determination and heterozygous expression of nucleoside diphosphates kinase of *Pisum sativum*. *Plant Mol Biol* 251:59-67.
- Gilles, A.M., E. Presecan, A. Vonica and I. Lascu. 1991. Nucleoside diphosphate kinase from human erythrocytes: structural characterization of the two polypeptide chain responsible for heterogeneity of the hexameric enzyme. *J. Biol. Chem.* 266:8784-8789.
- Harris, N., J. Taylor and J. Roberts. 1994. Isolation of mRNA encoding a nucleoside diphosphate kinase from tomato that is up-regulated by wounding. *Plant Mol Biol* 25:739-742.
- Lee, S.K. 1984. Chemical compositions of dried wild and cultivated *Codonopsis lanceolata*. *J Korean Agricultural Chemical Society* 27:225-229.
- Lee, C.B. 1980. A pictorial book of the Korean flora. Hyang mu-sa, Seoul. p724.(in Korean)
- Ling, P., K. Maki, Y. Akira and U. Hirofumi. 2000. Nucleoside diphosphates kinase required for coleoptile elongation in rice. *Plant Physiology* 122:447-452.
- Lubeck, J. and J. Soll. 1995. Nucleoside diphosphate kinase from pea chloroplasts: purification, cDNA cloning and import into chloroplasts. *Planta* 1964:668-673.
- Martha, L., G. Escobar, M. Salla, H. Gunilla, F. Jens and K. Carina. 2001. Heat stress response in pea involves interaction of mitochondrial nucleoside diphosphate kinase with a novel 86-kilodalton protein. *Plant physiology* 126:69-77.
- Matsushita, Y., T. Suzuki, R. Kubota, M. Mori, H. Shimosata, M. Watanabe, T. Kayano, T. Nishio and H. Nyunoya. 2002. Isolation of a cDNA for a nucleoside diphosphate kinase capable of

- phosphorylating the kinase domain of the self-incompatibility factor SRK of *Brassica campestris*. *Journal of Experimental Botany* 53:765-767.
- McDonald, N.J., De la Rosa A, M. Benedict, J. Freije, H. Klutsch and P. Steeg. 1993. A serine phosphorylation of Nm23, and not its nucleoside diphosphate kinase activity, correlates with suppression of tumor metastatic potential. *J. Biol Chem.* 268:25780-25789.
- Min, S.R., S. Yang, J. Liu, P. Choi and W. Soh. 1992. High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of *Codonopsis lanceolata*. *Plant Cell Rep* 10:621-623.
- Moon, H.J., B.Y. Lee, G. Choi, C. Lim and D. Yun. 2003. NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activate MARKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. *PNAS.* 100:358-363.
- Morris, P.C., A. Kumar, D. Bowles and A. Cuming. 1990. Osmotic stress and abscisic acid regulate the expression of the *Em* gene of wheat. *Eur J Biochem* 190:625-630.
- Nato, A., A. Mirshahi, G. Tichtinsky, M. Mirshahi, J. Faure, D. Lavergne, De Buyser J, C. Jean, G. Ducreux and Y. Henry. 1997. Immunological detection of potential signal-transduction proteins expressed during wheat somatic tissue culture. *Plant Physiol* 113:801-807.
- Nevikava, G.V., I. Moshkov, A. Smith, O. Kulaeva and M. Hall. 1999. The effect of ethylene and cytokinin on guanosine 5'-triphosphate binding and protein phosphorylation in leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Planta.* 208:239-246.
- Nomera, T., K. Yatsunami, A. Honda, Y. Sugimoto, T. Fukui, J. Zhang, J. Yamamoto and A. Ichikawa. 1992. The amino acid sequence of nucleoside diphosphates kinase 1 from spinach leaves, as deduced from the cDNA sequence. *Arch Biochem Biophys* 15:42-45.
- Otero, A., M.B. Doyle, M.T. Hartsoug and P.S. Steeg. 1999. Wild-type NM23-H1, but not its S120 mutants, suppresses desensitization of muscarinic potassium current. *Biochem Biophys. Acta* 1449:157-168.
- Park, P.E. and R.P. Agarwal. 1973. Nucleoside diphosphates kinase. In PD Boyer, ed, the Enzyme. Academic Press, New York, Vol. 8, pp. 307-333.
- Shin, J.H. and M.C. Park. 2000. Introduction of RAG25 gene into *Codonopsis lanceolata* by *Agrobacterium tumefaciens*. *Korean J. Plant Tissue Culture* 27:491-496.
- Sin, S.C., J.L. Lee, E.S. Lee, E.S. Yoon. 1991. Screening test for antitumor activity of *Eragrostis ferruginea* Thunb. *J. Oriental Bot. Ros* 41:1-4.
- Sommer, D. and P.S. Song. 1994. A plant nucleoside diphosphates kinase homologous to the human Nm 23 gene product: purification and characterization. *Biochim Biophys Acta* 21:464-470.
- Tanaka, N., T. Ogura, T. Noguchi, H. Hirano, N. Yabe, K. Hasunuma. 1998. Phytochrome-mediated light signals are transduced to triphosphate nucleoside diphosphates in *Pisum sativum* L. cv. Alaska. *J Photochem Photobiol B.* 452:113-121.
- Zimmermann, S., A. Baumann, K. Jaekel, I. Marbach, D. Engelberg and H. Frohnmeyer. 1999. UV-responsive genes of *Arabidopsis* revealed by similarity to the Gcn4-mediated UV response in yeast. *J Biol Chem* 274:17017-17024.

(접수일 2003. 8. 15)

(수락일 2003. 10. 2)