

# 벼의 엽신 및 캘러스에서 Cytokinin 유도성 A-type 및 C-type Cyclin 유전자의 발현 분석

이홍근<sup>1</sup>, 최승호<sup>1</sup>, 황현식<sup>1</sup>, 박정안<sup>1</sup>, 이택건<sup>2</sup>, 박종범<sup>3</sup>, 오정균<sup>4</sup>, 이석찬<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>성균관대학교 유전공학과, <sup>2</sup>한국해양연구원 남해연구소, <sup>3</sup>신라대학교 생명과학과, <sup>4</sup>국립 목포대학교 응용생명과학부

## Expressions of A-type and C-type Cyclins Induced by Exogenous Cytokinin Treatment on Leaf Blades and Calli of Rice (*Oryza sativa* L.)

Honggun Lee<sup>1</sup>, Seungho Choi<sup>1</sup>, Hyunsik Hwang<sup>1</sup>, Jungan Park<sup>1</sup>, Taekkyun Lee<sup>2</sup>, Jongbum Park<sup>3</sup>, Chungkyoon Auh<sup>4</sup>, Sukchan Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Genetic Engineering, Sungkyunkwan University, Suwon, 440-746, Korea

<sup>2</sup>South Sea Institute, Korean Ocean Research and Development Institute, Geoje, 656-830, Korea

<sup>3</sup>Department of Life Science, Silla University, Busan 617-736, Korea

<sup>4</sup>Division of Applied Biotechnology, Mokpo National University, Chunnam 534-729, Korea

**ABSTRACT** The expression patterns of cyclin genes, which play a crucial role on cell cycle control, were analyzed with rice calli and leaf blades from seedlings. When callus was transferred from media containing the combinations of 2,4-D and kinetin under the dark conditions to medium supplemented with cytokinin-only on 7 days after the cultures, the expression levels of A-, B- and C-type cyclins from callus were increased significantly. Despite the fact that cyclin genes were well expressed on leaf blades rather than other organs in rice seedlings, rice leaf blades grown on the medium containing various combinations and concentrations of cytokinin for 24 hours had no major effect on the expression patterns of cyclins except zeatin. The relation between cytokinin regulation and the expression of cyclins of rice is discussed.

**Key words:** Callus, cyclin, cytokinin, rice

### 서 론

식물의 발생에 있어서 중요한 요소로 작용하는 세포 주기의 조절은 cyclin과 cyclin dependent kinase (CDK)의 조절에 의해 이루어진다 (Dewitte and Murray 2003). 그 중 cyclin 유전자는 CDK 활성화에 가장 본질적 요소로서 이미 효모와 동물 그리고 식물에서 그 유전자들의 분리

및 그 특성들이 연구되어져 있으며, 식물에서는 현재 5 종류의 cyclin 유전자들 (A, B, C, D, H type)이 보고되었다 (Renaudin et al. 1996; Vandepoele et al. 2002).

식물의 생장에 있어서 cytokinin은 단순히 식물의 성장 호르몬으로서의 작용뿐만 아니라 식물에서 외부 신호의 유입과 전달 등과 같은 signaling pathway에 있어 매우 중요한 역할을 하고 있으며 (Rashotte et al. 2003), 최근 isopentenyl transferase (Kakimoto 2003; Kasagara et al. 2004), cytokinin oxidase (Houba-Herlin et al. 1999; Morris et al. 1999; Massonneau et al. 2004) 등과 같은 cytokinin 생합

\*Corresponding author Tel 031-290-7866 Fax 031-290-7870  
E-mail sukchan@skku.ac.kr

성과 대사에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 또한 cytokinin은 auxin과 함께 식물세포의 조직배양시 세포 분열 조절에 많은 부분 관여하는 것으로 보고 되어져 있다. 특히 애기장대와 관련하여 cytokinin이 *cdc2* 유전자의 발현에 영향을 미치는 것으로 보고 되어졌으며 (Hemerly et al. 1993), G<sub>1</sub> 기에서 S 기의 조절에 영향을 미치는 D-type cyclin의 발현에도 관여한다 (Riou-Khamlichi et al. 1999).

애기장대와 마찬가지로 벼에서도 현재 5가지의 cyclin 유전자들이 보고 되어져 있으며 (Sauter et al. 1995; Umeda et al. 1999; Yamaguchi et al. 2000), 아미노산 염기서열의 유사성 정도에 따라서 A-type (*Os;cycA1;1*), B-type (*Os;cycB2;1*, *Os;cycB2;2*), C-type (*Os;cycC;1*), D-type (*Os;cycD*) 그리고 H-type (*Os;cycH;1*)로 분류되어 진다. *cycA1;1*의 경우, 벼 뿌리에서의 *In situ* hybridization을 통한 분석을 통해 G<sub>1</sub> 기에서 M 기 초기까지 발현하며, 반면 *cycB2;os;1*과 *cycB2;os;2*의 경우, M기 후기 까지 발현하는 것으로 보고되었다 (Umeda et al, 1999). 또한 gibberellin을 처리한 deep-water rice의 절간분열조직에서 *cycB2;os;1*과 *cycB2;os;2*의 transcript의 발현이 증가한다고 보고되었다 (Sauter et al. 1995). 현탁 배양시 *Os;cycH;1*는 S 기에서 가장 많이 발현되었으며, yeast two-hybrid assay를 통해서 벼 R2 kinase와의 interaction을 통해서 CDK-Activating Kinase (CAK) 기능을 가지고 있음이 보고되었다 (Yamaguchi et al, 2000; 2003). C-type cyclin과 D-type cyclin의 경우, 동물과의 염기 서열 비교를 통해서 알려져 있으나, 아직 그 명확한 기능과 역할에 대해서는 보고 되어지지 않았다.

애기장대에서 D-type cyclin의 발현이 cytokinin에 의해 조절되어지는 보고 (Riou-Khamlichi et al. 1999)가 있었으나 그 후 세포 주기에 관련된 cyclin의 발현과 cytokinin과의 연관성에 대한 연구는 매우 미비하며, 특히 벼에서 식물 성장 호르몬에 의한 세포 주기 관련 유전자들의 발현에 대해서는 많은 연구가 진행되지 않았다. 또한 벼의 cyclin 유전자들이 cytokinin과 함께 광주기 조건에 의해서도 그 발현량이 영향을 받으므로 (data not shown), 환경 조건에 따른 cyclin 유전자의 발현 정도와 cytokinin과의 연관성에 대해 체계적인 연구가 필요하다.

본 연구에서는 식물의 세포 주기와 cytokinin의 작용 사이에 상호 연관성을 구명하기 위해 벼에서 분리 보고된 7가지 cyclin 유전자들 (Lee et al. 2003; Sauter et al. 1995; Umeda et al. 1999; Yamaguchi et al. 2000)이 캘러스 배양 과정 중에 auxin과 cytokinin의 조절에 의해 발현되는 양상을 최초로 조사하였으며, 특히 벼의 엽신에 있어서 cytokinin의 종류에 따른 7개 cyclin 유전자들의 발현 정도를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료식물의 재배

Cytokinin 종류와 외부 처리량에 따른 벼 엽신에서 cyclin 유전자들의 발현 양상을 조사하기 위하여, 벼 종자를 30°C 배양기에서 2일간 발아시킨 후, 16시간 광조건, 8시간 암조건 하에서 25°C를 유지하면서 생장시켰다. 15일간 배양된 벼의 잎 절편체를 채취하여 3가지 cytokinin (zeatin, kinetin, 그리고 6-benzyladenine (BA))이 다양한 농도 (각각 0, 0.1, 0.5 mg/L)로 처리된 B<sub>5</sub> 고체 배지 (Gamborg et al. 1968)에 옮겨서 24시간 처리하였다.

### 캘러스 유도과 호르몬 처리

캘러스에 있어서 cytokinin 농도에 따른 cyclin 유전자의 발현 정도를 분석하기 위해 종피를 제거한 종자 (*Oryza sativa* L. cv. Ilpoum)를 70% ethanol과 50% sodium hypochlorite에 표면 소독하여 멸균된 filter paper로 옮겨 물기를 제거한 뒤, 0.8% phytagel이 포함된 고체 배지로 옮겨 주었다. 배지는 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)가 2 mg/L 포함된 B<sub>5</sub> 배지를 이용하였다. 이후 캘러스 유도를 위하여 27°C에서 40일 정도 암배양 하였다. 유도된 캘러스 중 0.2 g을 취하여 다른 농도 및 조합의 식물 호르몬 처리를 위해서 호르몬이 없는 B<sub>5</sub> 배지에서 다시 24시간 배양하였다. 이렇게 준비된 캘러스를 식물 호르몬으로 0, 2, 4 mg/L 2,4-D와 0, 0.1, 0.5 mg/L Kinetin가 조합 처리된 배지에 옮겨 배양하였다.

### Total RNA 분리 및 cDNA 합성

생장 호르몬이 처리된 캘러스와 벼의 조직을 각각 0.2 g을 취한 후 액체 질소에 급속 냉동시켜 아주 미세하게 파쇄한 후 RNeasy mini kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. 이렇게 분리한 total RNA 5μg을 molony murine leukemia virus reverse transcriptase (M-MLV RT, Promega Co., USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다.

### 세포주기 관련 유전자 발현 정도 분석

종자로부터 유도된 캘러스와 벼 실생의 조직에 있어서 세포주기 관련 유전자들의 발현 양상을 RT-PCR로 분석하기 위해서 primer set를 제작하였다 (Table 1). 식물 호르몬의 처리에 따른 cyclin 유전자들의 발현 정도를 분석하기 위해서 호르몬이 처리된 캘러스와 조직을 확보한 뒤 Joubes의 방법 (Joubes et al. 1999; 2000)을 변형하여 Semi-quantitative

**Table 1.** Set of PCR primers used to amplify gene-specific regions and corresponding sizes of cyclin genes

Genes	Primer sequence (5'→3')	Expected size	References (Accession No.)
cycA1;1	Sense : taactacattgatcgttatctttctg Antisense : tctctgaagtatgtgttcagttat	159	(GI:6331694)
cycB2;1	Sense : agttctatagagaaaatgaggaaatg Antisense : ttccaagaatctgtctactatgtta	183	(GI:6331703)
cycB2;2	Sense : ctgcatacaaaataactctgaagaac Antisense : taaatgtgctgtactttctatgaact	118	(GI:1694891)
cycC	Sense : aggcacttgactattatttagttgtt Antisense : atgagaataagatccatcttgaagt	139	(GI:1695697)
cycD	Sense : atagctagaggaacagaatgcttg Antisense : gacatcctctcctatttaccatgg	119	(GI:18916915)
cycH1	Sense : acttgattattcttctgcaaatg Antisense : cataaacaatcagatcaaaatctaaa	145	(GI:9796395)

RT-PCR을 수행하였다. 각각의 조직으로부터 준비된 5 µg의 total RNA를 이용하여 cDNA를 합성한 후 그 결과물을 1/10으로 희석하여 semi-quantitative RT-PCR 반응을 통해 cyclin 유전자의 발현량을 비교하였다. 모든 cyclin 유전자들의 PCR 반응 산물에 대한 양적 발현 양상 분석은 densitometer (AC1 AutoChemi System, UK)를 사용하여 정량분석 하였다.

**결과 및 고찰**

**벼의 캘러스에서 auxin과 cytokinin 처리에 따른 cyclin 유전자들의 발현 양상**

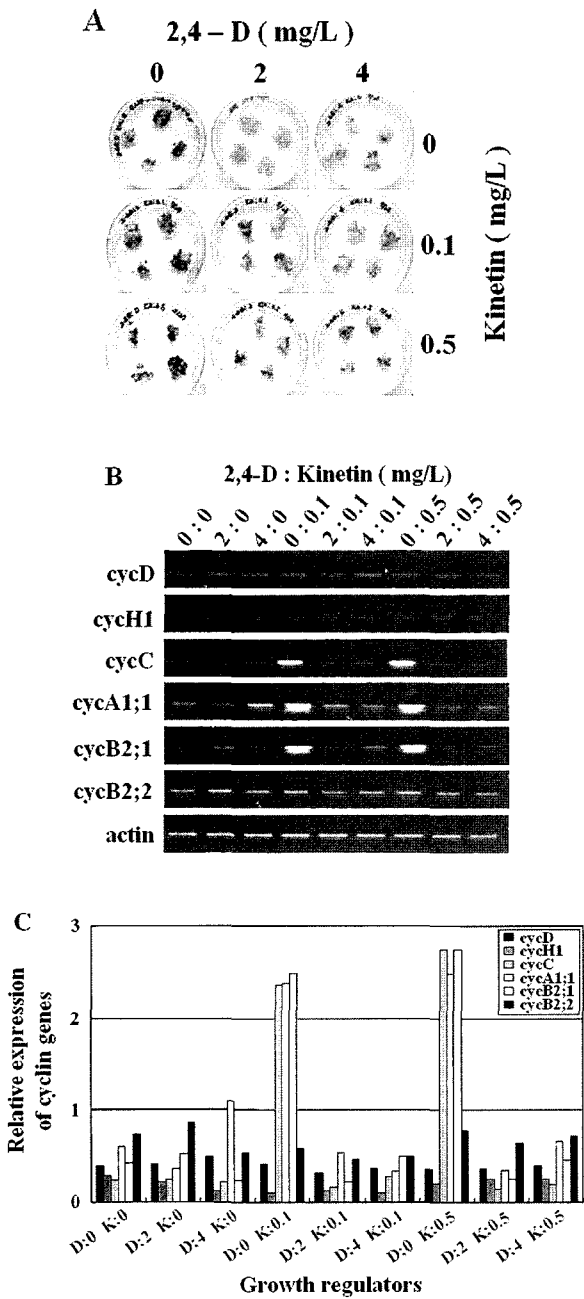
조직배양 과정 중 배지에 첨가된 식물 성장 호르몬 종류 및 농도에 따른 캘러스의 생리적 변화 양상을 조사하기 위하여 종자로부터 유도된 캘러스를 식물 성장 호르몬이 없는 B<sub>5</sub> 고체 배지에 24시간 처리한 후 2,4-D와 kinetin이 첨가된 배지 위에 치상하여 7일 동안 암 상태에서 배양 하였다 (Figure 1A). 어떤 식물 성장 호르몬 처리에 의해서도 7일 동안의 암 배양 동안 기관 형성 및 체세포배형성과 같은 외부 형태의 변화는 관찰되지 않았으며, 캘러스 부피의 증감이나 성장 속도에도 별 차이를 보이지 않았다.

식물에 특정 성장 호르몬이나 스트레스 처리 후 또는 발생 단계별로 특정 유전자의 발현양은 Northern blot hybridization을 이용하여 조사하는 것이 일반적이나 cyclin이나 CDK 같은 세포주기 관련 유전자의 발현양은 전체적으로 식물체 내에 발현양이 많지 않아 Northern hybridization 으로는 검출이 잘 되지 않는다. 또한 cyclin 또는 CDK은 각각의 type 간에 또는 type 내에서도 염기서열 상동성이 60% 이상 (Vandepoele et al. 2002)으로 매우 높아 특정 유전자의 발현을 분석하기 위해서는 Northern hybridization 방법이 효과적이지 않으며 일반적으로 최근에는 semi-quantitative

RT-PCR을 이용하거나 RT-PCR이후에 Southern hybridization을 수행한다 (Ferreira et al. 1994; Joubes et al. 1999; 2000). 따라서 식물 성장 호르몬이 처리된 캘러스 유래 cyclin 유전자들의 발현 양상을 조사하기 위하여 semi-quantitative RT-PCR에 의한 정량분석을 수행하였다 (Figure 1B). 벼의 캘러스에서 2,4-D만 단독 처리한 경우 혹은 2,4-D와 kinetin이 동시에 처리한 경우, 대부분의 cyclin 유전자들의 발현 양상은 성장 호르몬을 첨가하지 않은 배지에서 자란 캘러스와 유사한 발현 양상을 보여주었다 (Figure 1B). 그러나 kinetin만을 함유하고 있는 배지에서 배양된 캘러스에서는 특정 cyclin 유전자들의 발현량이 증가하였다. C-type cyclin의 경우, kinetin이 들어간 배지에서 kinetin이 첨가되지 않은 callus에 비하여 약 10배 이상 그 발현량이 증가하였다. 또한 A-type cyclin인 cycA;1와 B-type cyclin인 cycB2;1에서도 각각 10배 이상의 발현량을 보였다. 반면, D-type cyclin과 H-type cyclin에서는 그 발현량의 증가가 나타나지 않았으며, 같은 B-type cyclin인 cycB2;2에서도 발현량의 증감을 보이지 않았다 (Figure 1C). 이러한 결과는 캘러스에서 세포분열에 관련된 cyclin 유전자들의 발현 조절이 cytokinin에 의해 영향을 받는다는 것을 알 수 있었고, 애기장대 현탁배양에서 각각의 cyclin 유전자들이 외부 cytokinin 첨가에 의해 서로 다르게 발현되어지는 연구 결과 (Fuerst et al. 1996)와 유사한 결과를 보여주었다. 반면, 애기장대의 D-type cyclin 유전자의 발현이 외부 cytokinin 첨가로 인해 증가하는 보고 (Riou-Khamlichi et al. 1999)와는 다르게 벼에서는 그 발현에 영향이 없었음을 알 수 있었다. 오히려, 외부 cytokinin의 영향에 의해 A-, B-, C-type cyclin들의 발현이 증가함으로써 애기장대와는 다르게 영향을 받는 것으로 보여진다.

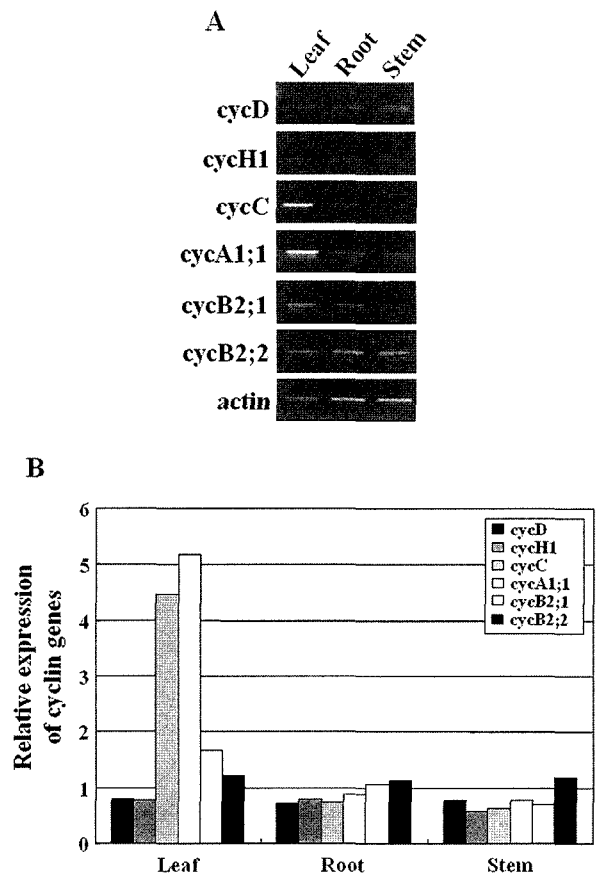
**벼의 기관별 cyclin 유전자들의 발현양상**

벼의 기관에 따른 cyclin 유전자들의 발현 정도를 분석하



**Figure 1.** Analysis of cyclin gene expressions in rice callus treated by combination of 2,4-D and kinetin. (A) Culture of callus on Gamborg B<sub>5</sub> media containing 0-4 mg/L of 2,4-D and/or 0-0.5 mg/L of kinetin. (B) Expression patterns of cycle genes in phytohormone-treated callus. (C) Quantitative analysis of cycle genes in phytohormone-treated callus. Quantitative analysis was performed by densitometer.

기 위해 무균배지에서 15일 동안 성장시킨 벼 실생의 잎, 줄기 및 뿌리로부터 total RNA를 분리한 후, semi-quantitative RT-PCR을 이용하여 각각의 cyclin 유전자의 발현을 분석 하였다 (Figure 2A). 식물에서 A-과 B-type cyclin 유전자들의 경우, 줄기와 뿌리의 정단 부위, 어린 잎과 배와 같이 세포분열능력을 가지는 기관에서 주로 발현 되어지며, 새로운 기관을 형성하는 세포에서 제한적으로 발현된다 (Chau-



**Figure 2.** Analysis of cyclin gene expressions in various organs from rice seedlings. (A) Expression patterns of cycle genes from leaf, root and stem in rice seedling. (B) Quantitative analysis of cycle genes from leaf, root and stem in rice seedling. Quantitative analysis was performed by densitometer.

bet-Gigot, 2000). *CycA1*은 식물에서 *CycA2* 나 *CycA3*에 비해 그 발현량이 많은 것으로 보고 되어져 있고, 콩이나 유채와 같은 식물에서는 줄기와 뿌리의 정단부위에서 동등하게 발현되어진다 (Kouchi et al. 1995; Szarka et al. 1995). 벼 실생에서도 마찬가지로 *cycA1;1* 발현은 줄기와 뿌리에서 적었으나, 잎에서는 3배 이상 많이 발현되어지는 것으로 관찰되었다. *cycB2;1*에서도 줄기나 뿌리에 비해 많은 차이가 나지는 않지만 잎에서 더 높은 발현량을 보였다. 애기장대의 B-type cyclin과 높은 염기서열 유사성을 가지고 있는 alfalfa의 *cycMs2*의 경우에도 어린잎과 절간 그리고 화아 같은 분열조직능력을 갖는 기관과 현탁 배양에서 그 발현 양이 높게 나타났으나 성숙한 기관에서는 발현이 거의 나타나지 않았다 (Hirt et al. 1992). 반면 *cycB2;2*의 발현은 조직 특이적으로 나타나지 않았으며, *cycB2;1*과 다른 경향을 나타내었다. 애기장대에서 *cycB2;1*의 과발현은 뿌리의 생장을 촉진시키고 (Doerner et al. 1996), *cycB2;2*가 과발현된 형질전환 벼에서 세포 크기의 증가와는 상관없이 뿌리의 생장이 가속되었다는 보고 (Lee et al. 2003)와 비교하여 보았을 때, *cycB2;2*는 제한된 시기에서만 발현되어지는

것으로 예상되어진다. C-type cyclin의 경우, *cycA1;1*과 마찬가지로 다른 기관에 비해서 잎에서 높은 발현을 보였다. C-type cyclin의 경우, CDK8과 연관되어 carboxy-terminal domain (CTD)에 kinase activity를 활성화시키는 역할을 하며 발현량 조절에 연관되어 있다 (Rickert et al. 1996; Yamaguchi et al. 2000). 아직까지 C-type cyclin의 발현이 식물에 미치는 영향에 대해서 연구된바 없으나, 벼 실생에서 다른 기관들에 비해 그 발현량이 높은 것이 관찰되었으며 제한적으로 조직특이적인 발현 양상을 보이는 것으로 보여진다. D-type cyclin의 경우는 기관 간에 발현량의 변화가 없었다 (Figure 2B). 애기장대의 경우, D-type cyclin 발현은 분열중인 조직과 많은 연관성을 가지고 있으며 같은 종류의 D-type cyclin들 간에도 분화하는 세포에 따라 다르게 발현된다. *CYCD4;1*의 발현은 측근, 배발생 과정 그리고 유관속 조직의 발달과 연관되어져 있으며, *CYCD3;1*는 분열 중인 줄기와 잎조직에서 축적된다. *CYCD1* 또한 화서에서 주로 발현된다 (Dewitte and Murray 2003).

하지만 벼에서 D-type cyclin에 대한 연구는 염기서열 분석 이외에 진행되어진바 없으며, 애기장대와 다르게 실생에서 조직 특이적으로 발현되지 않았다 (Figure 2B). *cycH1*의 경우 조직마다 큰 차이를 보이지 않았으며, 신장중이거나 분열중인 조직에서 낮은 발현량을 보인다는 연구보고 (Yamaguchi et al. 2000)와 같은 결과를 얻었다. 따라서 *cycA1;1*, *cycB2;1* 그리고 *cycH1* 등의 유전자는 다른 식물과 비교하여 같은 발현 양상이 관찰되었으나, D-type cyclin의 경우, 애기장대와는 달리 모든 조직에서 발현 양상의 차이가 없었고, C-type cyclin의 경우, 벼에서는 처음으로 조직 특이적으로 잎에서 발현됨을 확인 하였다.

벼 실생을 통한 cytokinin 종류별 cyclin 유전자들의 발현양상

캘러스에서 cytokinin에 의한 cyclin 유전자들의 발현 양상과 실생의 잎에서의 특정 cyclin 유전자들의 발현이 다르게 나타남을 근거로 cytokinin의 농도와 종류에 따른 cyclin 유전자 발현 양상을 조사하였다. 이를 위해 3가지 다른 종류의 cytokinin이 농도별로 포함된 B<sub>5</sub> 고체 배지에 엽신의 절편을 옮겨놓고 24시간 배양후 cyclin 유전자들의 발현량을 semi-quantitative RT-PCR을 이용하여 비교해 보았다 (Figure 3). 성장 호르몬을 넣지 않은 배지에서 절편을 유지한 경우와 비교하여 모든 종류의 cytokinin에 의한 cyclin gene들의 발현양 변화는 큰 차이를 보이지 않았다. 하지만 다른 종류의 cytokinin들에 비해 zeatin이 포함된 배지에 처리된 엽신 절편에서 C-type cyclin과 D-type cyclin 유전자들의 발현이 다른 cyclin 유전자들에 비해 다소 증가하는 경향을 보였고, H-type cyclin과 B-type cyclin 유전자들의 발현은 전반적으로 낮은 경향을 보여주었다.

CDK (R2 cDNA)이 과발현한 벼에서 cytokinin을 처리하지 않고도 벼에서 callus가 유도되는 현상이 관찰되었으며 이로서 벼의 R2 cDNA가 cytokinin에 의한 signal transduction과 관련이 있음이 처음 보고되었다 (Yamaguchi et al. 2003). 또한 담배의 경우는 cytokinin의 처리에 의해 tyrosin phosphatase의 탈인산화가 유도되고 이어서 CDK의 활성이 촉진되어 세포는 G2에서 M 기로 전이가 일어남을 보여주었다 (Zhang et al. 2005). 하지만 cytokinin과 cyclin과의 관계는 최근에 옥수수를 이용하여 발아과정동안 cyclin D2가 cytokinin의 처리에 의해 발현이 유도된다는 보고 (Gutierrez et al. 2005) 이외에 식물 성장 호르몬과 cyclin 사이의 상관관계에 대해서는 연구 보고가 많지 않다. 따라서 다양한 식물에서 식물발생과정동안 여러 성장 호르몬의 처리에 따른 세포주기 유전자의 발현분석은 세포주기 관련 유전자들의 기능분석을 위해 체계적인 연구가 필요하다.

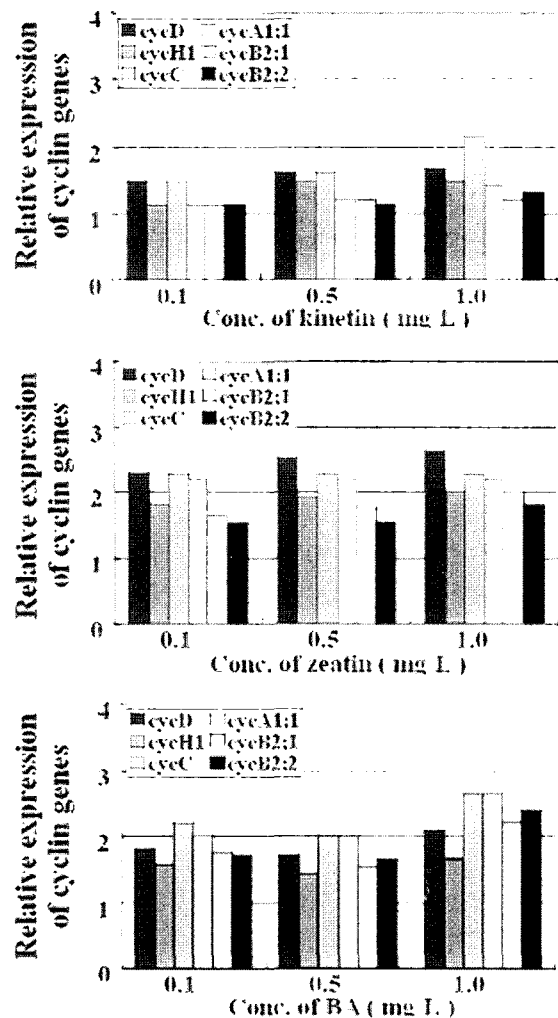


Figure 3. Analysis of cyclin gene expressions in rice leaf blades under different kinds of cytokinin. Leaf blades from seedlings were cultured on Gamborg B<sub>5</sub> media containing various cytokinins, zeatin, kinetin and BA respectively. Quantitative analysis was performed by densitometer.

## 적 요

세포 주기의 조절에 있어 중요한 역할을 담당하고 있는 cyclin 유전자들의 발현 양상을 벼에서 유도한 캘러스와 엽신을 이용하여 관찰하였다. 특히 캘러스를 이용한 분석 결과 2,4-D와 kinetin이 조합된 배지 위에 7일 동안 암 배양한 후 이를 cytokinin만이 첨가된 배지로 옮겼을 때 A-, B-, C-type cyclin 유전자들의 발현이 더 증가되었다. 또한 벼 싹의 각 기관에서 cyclin 유전자의 발현양을 조사한 결과 다른 기관들에 비해 잎에서 A-, B-, C-type cyclin 유전자들이 더 많이 발현하였으나 잎에 cytokinin의 종류와 농도를 다르게 처리하여 24시간동안 배양한 결과에서는 zeatin을 제외하고는 cytokinin의 종류와 양이 cyclin 유전자들의 발현에 큰 영향을 미치지 못함을 알 수 있었다. 본 실험에서는 벼 cyclin 유전자의 발현과 식물생장조절제 처리와의 상관 관계에 대해서 조사하였다.

## 인용문헌

- Chaubet-Gigot N (2000) Plant A-type cyclins. *Plant Mol Biol* 43: 659-675
- Dewitte W, Murray JA (2003) The plant cell cycle. *Annu Rev Plant Biol* 54: 235-264
- Doerner P, Jorgensen JE, You R, Steppuhn J, Lamb C (1996) Control of root growth and development by cyclin expression. *Nature* 380: 520-523
- Ferreira P, Hemerly A, de Almeida Engler J, Bergounioux C, Burssens S, Van Montagu M, Engler G, Inze D (1994) Three discrete classes of *Arabidopsis* cyclins are expressed during different intervals of the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 11313-11317
- Fuerst RA, Soni R, Murray JA, Lindsey K (1996) Modulation of cyclin transcript levels in cultured cells of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 112: 1023-33
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res* 50: 151-158
- Gutierrez R, Quiroz-Figueroa F, Vazquez-Ramos JM (2005) Maize cyclin d2 expression, associated kinase activity and effect of phytohormones during germination. *Plant Cell Physiol* 46: 166-173
- Hemerly AS, Ferreira P, de Almeida Engler J, Van Montagu M, Engler G, Inze D (1993) cdc2a expression in *Arabidopsis* is linked with competence for cell division. *Plant Cell* 5: 1711-1723
- Hirt H, Mink M, Pfosser M, Bogre L, Gyorgyey J, Jonak C, Gartner A, Dudits D, Heberle-Bors E (1992) Alfalfa cyclins: differential expression during the cell cycle and in plant organs. *Plant Cell* 4: 1531-1538
- Houba-Herlin N, Pethe C, d'Alayer J, Laloue M (1999) Cytokinin oxidase from *Zea mays*: purification, cDNA cloning and expression in moss protoplasts. *Plant J* 17: 615-626
- Joubes J, Phan TH, Just D, Rothan C, Bergounioux C, Raymond P, Chevalier C (1999) Molecular and biochemical characterization of the involvement of cyclin-dependent kinase A during the early development of tomato fruit. *Plant Physiol* 121: 857-869
- Joubes J, Walsh D, Raymond P, Chevalier C (2000) Molecular characterization of the expression of distinct classes of cyclins during the early development of tomato fruit. *Planta* 211: 430-439
- Kakimoto T (2003) Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu Rev Plant Biol* 54: 605-627
- Kasahara H, Takei K, Ueda N, Hishiyama S, Yamaya T, Kamiya Y, Yamaguchi S, Sakakibara S (2004) Distinct isoprenoid origins of cis- and trans-zeatin biosyntheses in *Arabidopsis*. *J Biol Chem* 279: 14049-14054
- Kouchi H, Sekine M, Hata S (1995) Distinct classes of mitotic cyclins are differentially expressed in the soybean shoot apex during the cell cycle. *Plant Cell* 7: 1143-1155
- Lee J, Das A, Yamaguchi M, Hashimoto J, Tsutsumi N, Uchimiya H, Umeda M (2003) Cell cycle function of a rice B2-type cyclin interacting with a B-type cyclin-dependent kinase. *Plant J* 34: 417-425
- Massonneau A, Houba-Herlin N, Pethe C, Madzak C, Falque M, Mercy M, Kopecny D, Majira A, Rogowsky P, Laloue M (2004) Maize cytokinin oxidase genes: differential expression and cloning of two new cDNAs. *J Exp Bot* 55: 2549-2557
- Morris RO, Bilyeu KD, Laskey JG, Cheikh NN (1999) Isolation of a gene encoding a glycosylated cytokinin oxidase from maize. *Biochem Biophys Res Commun* 255: 1998-2011
- Rashotte AM, Carson SD, To JP, Kieber JJ (2003) Expression profiling of cytokinin action in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 132: 1998-2011
- Renaudin JP, Doonan JH, Freeman D, Hashimoto J, Hirt H, Inze D, Jacobs T, Kouchi H, Rouze P, Sauter M, Savoure A, Sorrell DA, Sundaresan V, Murray JA (1996) Plant cyclins: a unified nomenclature for plant A-, B- and D-type cyclins based on sequence organization. *Plant Mol Biol* 32:1003-1018
- Rickert P, Seghezzi W, Shanahan F, Cho H, Lees E (1996) Cyclin C/CDK8 is a novel CTD kinase associated with RNA polymerase II. *Oncogene* 12: 2631-2640
- Riou-Khamlichi C, Huntley R, Jacquard A, Murray JA (1999) Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin. *Science* 283:1541-1544
- Sauter M, Mekhedov SL, Kende H (1995) Gibberellin promotes histone H1 kinase activity and the expression of cdc2 and cyclin genes during the induction of rapid growth in deepwater rice internodes. *Plant J* 7: 623-632
- Szarka S, Fitch M, Schaerer S, Moloney M (1995) Classification and expression of a family of cyclin gene homologues in *Brassica napus*. *Plant Mol Biol* 27: 263-275

- Umeda M, Iwamoto N, Umeda-Hara C, Yamaguchi M, Hashimoto J, Uchimiya H (1999) Molecular characterization of mitotic cyclins in rice plants. *Mol Gen Genet* 262: 230-238
- Vandepoele K, Raes J, De Veylder L, Rouze P, Rombauts S, Inze D (2002) Genome-wide analysis of core cell cycle genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: 903-916
- Yamaguchi M, Fabian T, Sauter M, Bhalerao RP, Schrader J, Sandberg G, Umeda M, Uchimiya H (2000) Activation of CDK-activating kinase is dependent on interaction with H-type cyclins in plants. *Plant J* 24: 11-20
- Yamaguchi M, Kato H, Yoshida S, Yamamura S, Uchimiya H, Umeda M (2003) Control of in vitro organogenesis by cyclin-dependent kinase activities in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 8019-8023
- Zhang K, Diederich L, John PC (2005) The Cytokinin Requirement for Cell Division in Cultured *Nicotiana glauca* Cells Can Be Satisfied by Yeast Cdc25 Protein Tyrosine Phosphatase. Implications for Mechanisms of Cytokinin Response and Plant Development. *Plant Physiol* 137: 308-316

(접수일자 2005년 1월 26일, 수리일자 2005년 3월 15일)