

안쪽으로 굽어지는 자엽초 박편의 옥신 반응을 촉진하는 옥수수(*Zea mays*) 내생물질의 탐색

박 응 준*

단국대학교 분자생물학과, 나노센서 바이오텍 연구소, BK21 RNA 전문인력양성사업팀

Received August 2, 2006 / Accepted August 23, 2006

Screening of Endogenous Maize (*Zea mays*) Substances Enhancing Auxin-induced Inward Curvature in Coleoptilar Slits. Woong June Park*. BK21 Graduate Program for RNA Biology, Department of Molecular Biology, Institute of Nanosensor and Biotechnology, Dankook University, Seoul 140-714, South Korea – When thin slits (e.g., 1 mm x 10 mm) of maize (*Zea mays*) coleoptiles were floated on a buffer, they spontaneously curved outward because of unbalanced tissue tension between inner and outer faces. Exogenously applied auxin induced inward curvature of the thin strip of the maize coleoptile in a dose-dependent manner. This bioassay system was used to screen endogenous substances that work together with auxin. In methanol extract of maize coleoptiles including the leaves inside, Active fractions that promote the auxin-induced inward curvature of maize coleoptile slices were found. The curvature-enhancing activity of the extract was not related to energy supply. The active substances were adsorbed to C₁₈ cartridges even at pH 10 and eluted in two fractions by 50% and 80% methanol. These substances were named as Curvature-Enhancing Factor-1 (CEF-1) and Curvature-Enhancing Factor-2 (CEF-2), respectively. The CEF-2 was resolved on a reversed phase C₁₈ column by HPLC.

Key words – Auxin-induced curvature, coleoptile, endogenous regulator, *Zea mays*

서 론

옥신은 식물의 생장에 일차적인 기능을 나타내지만 옥신의 작용은 조직과 발달단계에 따라 매우 다양하게 나타나기 때문에 여러 방식에 의한 활성조절이 매우 중요할 것으로 생각된다. 식물생장에 영향을 미칠 수 있는 여러 물질들 중에 옥신작용을 촉진하거나 억제하는 물질들도 존재한다는 것이 이미 반세기 전부터 알려져 왔다. 예로 Kefford [1,2]는 종이 크로마토그래피를 이용한 분석 실험에서 pH 3의 에테르 추출물에 indole-3-acetic acid (IAA), indoleacetonitrile (IAN) 및 다른 성장 촉진제와 성장 억제제가 존재하는 것을 발견하고 이들을 각각 α -촉진제(α -accelerator)와 β -억제제(β -inhibitor)라 명명하였다. 이 중 α -촉진제는 이소프로판올(isopropanol) : 물 = 10 : 1 (암모니아 포함) 용매를 이용하여 전개하였을 때 종이 크로마토그래피 상에서 IAA 보다 작은 Rf값을 가지며, β -억제제는 IAA보다 큰 Rf값을 가지고 있었다. 이 산성분획물에 포함된 성장 촉진 물질과 억제 물질은 황백화된 콩의 어린 싹과 뿌리, 옥수수의 뿌리, 감자의 껍질 등 여러 식물의 여러 조직에서 발견되었다. 그러나 Kefford는 α -촉진제와 β -억제제의 화학적 실체와 이들 물질의 작용 기작을 밝혀내지는 못하였다.

옥신작용의 촉진제나 억제제로 작용하는 물질로 그 화학적 실체와 작용기작이 알려진 것으로는 여러 가지 페놀산

(phenolic acids)들이 있는데, caffeic acid나 chlorogenic acid 등 2개나 3개의 OH기를 가진 페놀산들은 IAA의 작용을 촉진하는 반면, *p*-coumaric acid 등 하나의 OH기를 가진 페놀산들은 IAA의 작용을 억제한다[3]. 이들 페놀산들이 옥신반응을 촉진하거나 억제하는 결과를 나타내는 이유는 IAA oxidase 활성이 2개나 3개의 OH기를 가진 페놀산들에 의해 억제되는 반면 하나의 OH기를 가진 페놀산들에 의해서는 촉진되기 때문이었다. 즉 페놀산들은 옥신의 분해를 변화시켜 옥신의 함량에 영향을 미침으로써 옥신작용에 변화를 일으키는 것이다[3].

또한 flavonoids는 옥신의 수송을 억제하며 이와 동시에 옥신 수송의 속도제한단계(rate-limiting step)인 옥신 유출 운반자(efflux carrier)를 특이적으로 억제하는 N-naphthylphthalamic acid (NPA)의 결합을 방해하므로 옥신수송의 내부 조절인자이며 이제까지 알려지지 않았던 조절인자로 작용할 가능성이 대두되었다[4,5].

한편 광조건 하에서 키운 옥수수에는 benzoxazolinone이라 불리는 성장 억제 물질이 존재한다[6-8]. 이 물질은 그 생장억제 효과가 알려지기 이전에 이미 식물에서 준비한 막 vesicle에 옥신이 특이적으로 결합하는 것을 방해하는 물질, 이른바 supernatant factor로 분리되었으며[9], 구조와 활성을 비교, 조사한 결과 이 물질이 옥신작용을 억제하는데에 6번 탄소에 붙어있는 측쇄가 중요한 기능을 하는 것으로 알려졌다[10].

Oligosaccharide도 옥신작용에 영향을 미칠 수 있는데 xyloglucan (XG9)이 옥신에 의해 유도되는 신장 반응을[11-14], oligogalactouronides가 옥신에 의한 신장 반응과 뿌리 형성

*Corresponding author

Tel : +82-2-799-1368, Fax : +82-2-799-1368

E-mail : parkwj@dku.edu

을[15,16], galactoglucomannan이 옥신에 의한 신장을[17] 억제한다고 알려져 있다. 그러나 nM 범위에서 옥신에 의한 생장을 억제했던 xyloglucan이 μM 범위에서는 완두 줄기의 생장을 촉진하였고[18], 합성된 lipo-chitoooligosaccharide는 옥신에 반응하는 promoter를 활성화시키며[19], 포도(*Vitis vinifera*)의 물관에는 oligosaccharide인 생장 촉진 물질이 포함되어 있다고 보고되어[20], oligosaccharide가 단순히 생장 억제제로만 작용하지는 않는 것으로 생각된다. 이들 oligosaccharide들이 옥신작용에 영향을 미치는 기작은 확립되어 있지 않으므로 이들이 어떠한 조건에서 어떠한 방식으로 옥신작용의 내재적인 조절인자로 작용하는지에 관한 문제는 매우 흥미로운 과제이다.

이외에 식물에서 분리되는 chelidonic acid, chrysertermin A와 B 등도 옥신작용을 촉진한다고 알려져 있으며[3], 탄닌과[21] stigmasteryl- β -D-glucoside[22]에 의해서도 옥신에 의해 유도되는 생장반응이 촉진된다는 것이 알려져 있다. 그 밖의 화학적 실체가 밝혀지지 않은 옥신작용 촉진제들도 존재한다[23].

옥신작용을 촉진하는 또 다른 물질로 dihydroconiferyl alcohol을 들 수 있는데, 이는 지베렐린 작용의 보충인자로 분리되었으나[24], 곧 이어 일부 식물에서 옥신과도 상승작용을 일으킨다는 것이 알려졌다[25]. 처음에는 dihydroconiferyl alcohol이 옥신작용을 촉진하는 이유가 옥신의 분해를 막아 주기 때문인 것으로 생각되었으나[25], 다른 옥신 분해 억제제가 전혀 dihydroconiferyl alcohol과 같은 활성을 지니지 않으므로 이의 촉진 효과가 단순히 옥신 분해를 방지하기 때문에 나타나는 현상은 아닌 것으로 추정되었다[26].

이와 같이 옥신의 작용을 조절하는 다양한 내생물질들에 관한 연구가 진행되었지만, 화학 구조를 정확히 밝혀내지 못한 경우가 많았으며, 특히 옥신 작용을 시험하는 재료로 널리 사용되어 온 옥수수 자엽초에 존재하는 내생 조절물질들에 관하여는 자세히 알려진 바가 없었다. 본 연구에서는 옥수수 자엽초에 옥신의 작용을 촉진하는 물질들이 존재한다는 것을 확인하였으며, 화학 구조 분석에 필요한 정제 조건을 확립하였다.

재료 및 방법

식물재료

옥수수 (*Zea mays*) 종자 100 ml을 흐르는 물에 10분간 담가 수분을 공급한 후 1 liter의 vermiculite가 4 cm 두께로 깔린 플라스틱 상자에 고루 퍼서 뿌리고 다시 1 liter의 vermiculite를 고루 퍼서 넣은 후 1 liter의 2차 증류수를 고루 부어 적셨다. 플라스틱 상자의 뚜껑을 덮은 후 이를 다시 어둠상자에 넣고 25°C가 유지되는 적색광실에서 4일간 키우고 1분간 뚜껑을 열어 적색광을 처리하여, 다시 15-18 시간 키운 후

실험재료로 사용하였다.

옥수수 자엽초 박편의 채취

옥수수 자엽초 정단으로부터 7 mm 아랫부분에서 6 mm 또는 10 mm의 절편을 얻어낸 후 해부 바늘을 이용하여 내부의 잎을 제거하였다. 다음 자엽초의 관속 조직 사이의 조직을 slit 반대편에서 1 mm 폭으로 잘라내어(Fig. 1) 6 mm x 1 mm 또는 10 mm x 1 mm의 조직 박편을 얻었다.

옥수수 자엽초 박편의 옥신반응 측정

옥수수 자엽초 박편을 6-10개씩 옥신이 포함되어거나, 포함되지 않은 5 ml의 5 mM potassium phosphate buffer (pH 5.5)에 띄워 실험 목적에 필요한 시간만큼 25°C 조건하에서 진탕배양 하였다(30 cycles/min). 배양 후 조직이 굽어진 각도를 측정하였으며, 밖으로 굽어지는 각도를 (+), 안으로 굽어지는 각도를 (-)로 표시하여 방향성을 구분하였다.

활성 물질의 추출

5일된 옥수수 자엽초와 중배축 사이의 마디를 잘라 자엽초와 내부의 잎을 포함하는 부위를 그대로 100% 메탄올에 담가 24시간 동안 4°C에서 추출하거나, 조직을 액체질소 존재하에 분쇄하여 100% 메탄올로 추출하였다. 이렇게 얻은 시료를 13,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 (Sorvall, GSA rotor) 입자 성분을 제거한 다음, 정제 과정에 재료로 사용하였다. 추출물의 농도는 검정에 사용한 추출물이 원재료로 사용한 식물 몇 g에 해당하는지 계산하여 %농도 (g.f.w./ml)로 표시하였다.

활성 물질의 분리

일회용 C₁₈ 컬럼 (Waters, No 051910)을 컬럼 부피의 3-5

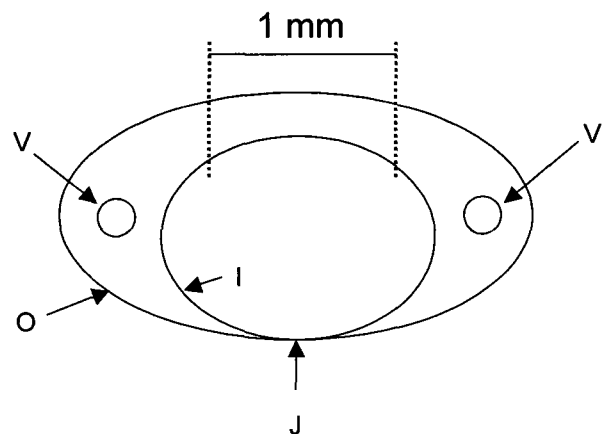


Fig. 1. Diagram showing a cross section of maize coleoptile. Two dashed lines delimit the strip that was cut out for the curvature test. V: vascular tissue; J: joining of two leaf edges; I: inner epidermis; O: outer epidermis.

배에 해당하는 100% 메탄올로 세척한 후 다시 5배 부피에 해당하는 20 mM Tris 완충용액 (pH 9.5)으로 평형시켜 준비하였다. 준비된 시료에 1 M Tris 용액을 첨가하여 pH를 9.5로 조절한 후 C₁₈ 컬럼에 유속 5 ml/min로 유입하여 흡착시키고 여러 농도의 메탄올 용액으로 용출 시험한 뒤 50%, 80% 용리 조건을 확립하였다. 용리된 시료는 N₂ 가스 흐름하에 농축하였으며, 시료의 양이 많을 때에는 다시 일회용 C₁₈ 컬럼에 흡착한 후 100% acetonitrile로 용리하여 N₂ 가스 흐름으로 농축하였다. HPLC 분석을 위하여는 동일한 Nucleosil RP-C₁₈ 분석용 컬럼을 사용하였으며 유속은 동일하게 0.8 ml/min으로 조절하였다. 메탄올 농도는 50분간 40%에서 95%까지 직선적으로 높여가며 시료를 용리하였고, 용액의 pH를 낮추기 위해 0.3% acetic acid를 사용하였다. 메탄올에 의해 용리되어 나오는 물질은 photodiode array detector로 측정하였다.

결과 및 고찰

옥신에 의해 유도되는 옥수수 자엽초 박편의 굽어짐 반응

옥수수 자엽초 박편을 완충용액에 배양하면 밖으로 굽어지는 반면, IAA (indole-3-acetic acid)를 처리하면 이에 반응하여 자엽초 박편이 안쪽으로 굽어지는 현상을 확인하였다 (Fig. 2). 이 반응은 IAA 처리 후 약 24시간까지 진행되었으며, 24시간 이후에는 새로운 IAA 용액을 가해주어도 더 이상의 반응이 진행되지 않았다. 이 굽어짐 반응은 IAA 뿐 아니라 1-NAA (1-naphthaleneacetic acid)에 의해서도 나타나 옥신에 대한 일반적인 반응의 하나임이 확인되었다 (data not shown).

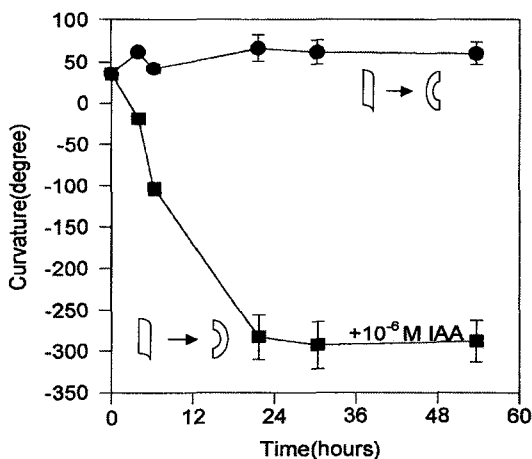


Fig. 2. IAA-induced curvature in maize coleoptile slices. Slices (10 mm x 1 mm) were incubated in 5 ml of incubation medium in the absence or presence of 10⁻⁵M IAA for 21 hours. Outward and inward curvature is indicated with positive and negative values, respectively. Vertical bars represent the standard errors of the mean.

옥수수 자엽초 박편에서 추출물의 옥신 작용 촉진효과

옥수수에 옥신에 의한 자엽초 박편의 굽어짐 반응을 촉진하는 물질이 존재하는지 확인하기 위해 메탄올로 옥수수 자엽초를 추출하여 옥신 존재 하에 자엽초 박편에 처리하였다. 그 결과 옥수수 추출물에 의한 옥신반응 촉진 효과를 발견하였다 (Fig. 3). 이러한 효과가 추출물이 옥신의 분해를 억제하여 결과적으로 배양액 내의 옥신 함량을 높여줌으로써 촉진 효과를 나타내었는지 확인하고자, 옥수수 자엽초의 추출물에 의하여 옥신반응이 촉진된 처리구의 배양용액을 채취하여 그에 포함된 옥신 함량을 측정하였지만 옥수수 추출물 처리구에서 옥신 함량이 증가했다는 증거는 찾을 수 없었다 (data not shown). 또한 옥수수 자엽초 박편의 옥신반응을 촉진하는 물질은 옥수수 뿐 아니라 호박 하배추의 메탄올 추출물에도 포함되어 있으므로 (Park, unpublished) 옥신 반응 촉진물질이 단자엽 식물과 쌍자엽 식물을 포함하는 식물군에 널리 존재할 것이라 생각되었다. 옥수수에서 얻은 메탄올 추출물의 농도를 ml 당 추출물이 유래한 조직의 fresh weight로 표시하여 0%에서부터 5%까지 높여가며 옥신에 의한 옥수수 자엽초 박편의 굽어짐 반응에 대한 영향을 조사했는데, 이 때 추출물의 촉진효과는 약 2.5% g.f.w/ml 이상에서 포화되었다 (Fig. 4). 시간별로 추출물의 옥신반응 촉진효과를 조사했을 때에는 추출물 처리 후 4시간 정도에 이미 촉진 효과가 관찰되었다.

특정 자극에 대응하는 식물호르몬의 선량반응곡선(dose-response curve) 변화를 분석하면 그 변화가 수용체 수준에서 일어난 것인지 아니면 그 이후의 과정에 의한 것인지 추정할 수 있다 [27]. 예를 들어 선량 반응곡선이 좌측(저농도측)으로 이동하면 수용체의 친화도가 증가한 것이며, 좌우 이동 없이 곡선이 위로 이동하는 것은 수용체 이후 단계의

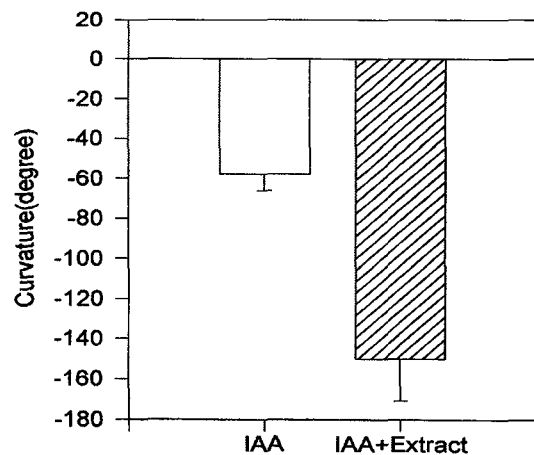


Fig. 3. Promotion of IAA-induced curvature by the methanol extract of maize coleoptiles. Curvature of slices (10 mm x 1 mm) was measured after 7-hour incubation in the absence or presence of 1% extract with 10⁻⁵M IAA. Vertical bars represent the standard errors of the mean.

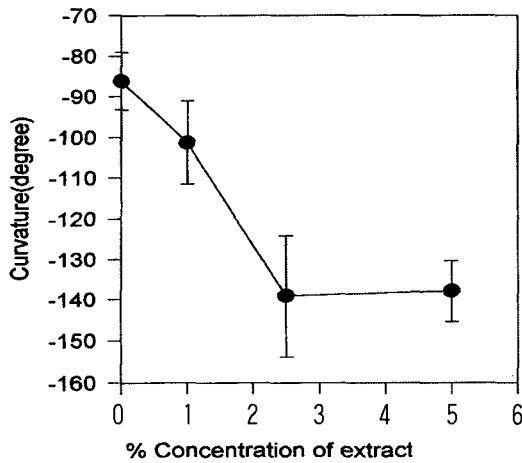


Fig. 4. Concentration effect of methanol extract on IAA-induced curvature. Slices (10 mm x 1 mm) were treated with the indicated concentrations of extract for 4.5 hours in the presence of 10^{-6} M IAA. Vertical bars represent the standard errors of the mean.

작용이 촉진되어 작용이 증폭되는 것이다[27]. 옥수수의 메탄올 추출물이 어떠한 방식으로 옥신작용에 영향을 미치는지 확인하고자 옥신의 선량반응곡선에 대한 추출물의 효과를 조사하였다(Fig. 5). 옥수수 자엽초의 메탄올 추출물은 옥신의 선량반응곡선을 좌우로 이동시키지 않았으며, 옥신이 존재하지 않을 때에는 아무런 촉진효과가 없었고, 고농도(10 μ M IAA)의 옥신이 존재할 때 현저한 옥신반응 촉진효과가 나타났다. 따라서 옥수수 추출물은 조직의 옥신 감지에 대한 감수성을 증가시키는 것이 아니라 동일한 감수성을 유지한 채 반응의 정도를 강화하는 것으로 판단되었다.

옥수수 자엽초의 박편은 네 방향에 유출면이 존재하므로 apoplast에 존재하는 물질들을 쉽게 잃어버릴 수 있을 것으로 생각되었다. 에너지로 사용되는 물질의 함량이 낮게 유지되다가 옥수수 자엽초 추출물 처리 시 부족한 에너지원이 보충되어 옥신반응이 더 잘 나타나는지 확인하고자 2%의 sucrose를 옥신 존재 하에 배양용액에 넣어 보았으나 아무런 효과가 없었다(data not shown). 따라서 추출물로부터 보충되는 물질은 에너지원이 아닌 조절물질일 것으로 추정되었다.

옥신 반응을 촉진하는 내생물질의 부분정제

옥신반응 촉진 물질을 부분 정제하는 조건을 찾기 위해 pH 5, pH 7, pH 10, pH 11에서 일회용 C_{18} 컬럼을 평형시켜 시료를 흡착하고 100% 메탄올로 용리한 결과, 모든 pH에서 활성물질이 C_{18} 컬럼에 흡착되는 것을 발견하였다(data not shown). 따라서 활성 물질은 pH의 변화에 의하여 이온화되지 않는 물질일 것으로 추정되었다.

C_{18} 컬럼으로부터의 용리조건을 찾기 위하여 메탄올 농도를 30%부터 100%까지 10%씩 단계적으로 올려가며 1.5 ml의 용액으로 용리하고 이들 분획의 활성을 조사하였다. 그 결과

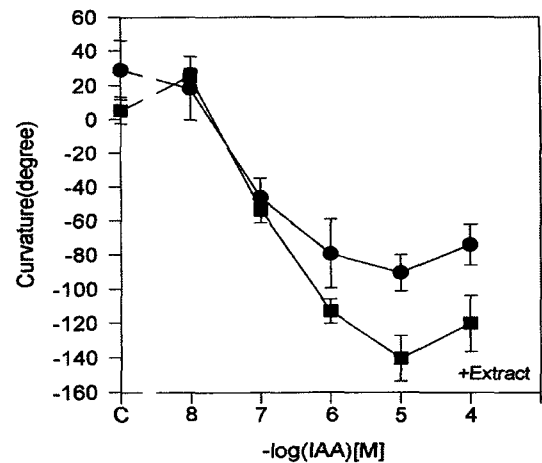


Fig. 5. Effect of methanol extract on auxin-induced curvature. Tissues (6 mm x 1 mm) were treated with or without 5% methanol extract for 6.5 hours. Vertical bars represent the standard errors of the mean.

옥신에 의한 굽어짐 반응을 촉진하는 물질은 50% 메탄올에 의해 용리되는 것과 80% 이상의 메탄올에 의해 용리되는 2가지가 있음을 확인하고(Fig. 6), 이들을 각각 Curvature-Enhancing Factor-1 (CEF-1)과 Curvature-Enhancing Factor-2 (CEF-2)라 명명하였다. 또 Nucleosil RP- C_{18} 분석용 HPLC 컬럼에서도 50분간 25%에서 95%까지 메탄올 농도를 직선적으로 증가시키며 용리했을 경우에도 일회용 C_{18} 컬럼을 사용했을 때와 동일하게 50% 메탄올과 80% 이상의 메탄올에 의해 용리되는 2개의 분획에서 활성이 나타났으므로(data not shown), 이후 모든 분리단계에서 CEF-1과 CEF-2를 부분 정제된 활성 물질로 사용하였다. CEF-1과 CEF-2가 시간별로 자엽

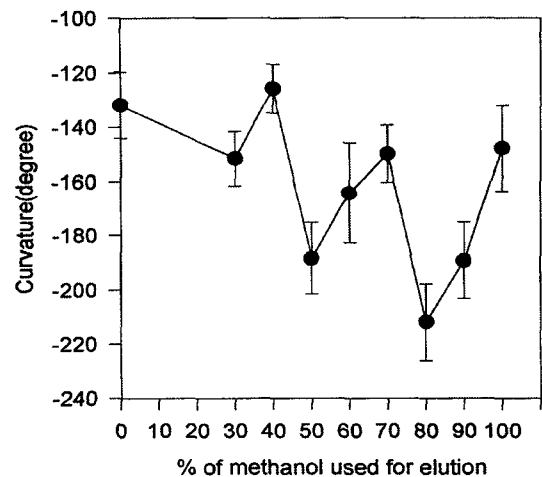


Fig. 6. Activity test for the fractions from C_{18} column eluted with stepwise gradient of methanol. For the elution, the methanol concentration was increased every 10% from 20% to 100%. In the incubation medium 7% of partially purified materials were included in the presence of 10^{-5} M IAA for 23-hour treatment.

초 박편의 굽어짐 반응에 미치는 영향을 조사하였는데, CEF-1과 CEF-2의 작용 시간은 차이가 없었다(data not shown).

HPLC를 이용한 Curvature-Enhancing Factor-2의 정제

CEF-2 분획에 들어있는 활성 물질을 순수 분리하기 위해 부분 정제된 시료인 CEF-2를 Nucleosil RP-C₁₈컬럼에 유입하여 흡착하고 산성 조건에서(0.3% acetic acid) 50분간 메탄올 농도를 40%에서부터 95%까지 직선적으로 높여가며 용리하였다(Fig. 7). 이때 각 분획을 매 1분 간격으로 받아 옥수수 자엽초 박편의 옥신에 의한 굽어짐 반응을 촉진하는 활성을 조사한 결과, 36분 이후에 용리되는 분획물이 활성을 지니고 있는 것으로 확인되었다(Fig. 8). 용리양상을 분석하여 280 nm에서의 흡광도를 시간에 따라 표시하였을 때 활성을 나타내는 피크는 다른 물질들에 비하여 매우 작아서 이 활성 물질의 농도는 매우 낮음을 알 수 있었다.

옥수수 자엽초에는 옥신 활성을 촉진하는 물질들이 최소한 2 가지가 존재하며, 그 중 더욱 소수성인 CEF-2는 HPLC에 의하여 정제 조건이 확립되었다. 그러나 그 함량이 낮으므로 분자 구조를 결정하기 위해서는 대량 분리에 성공해야 할 것으로 사료된다. 동일한 조건에서 CEF-1은 약 10 분 정도에 용리될 것으로 예측되었지만, 이 시간대에는 다양한 물질들이 동시에 용리되어 분리양상을 뚜렷하게 구분하기 어려웠으므로 CEF-1의 분리조건 확립은 일단 보류하였다.

옥신에 의한 성장 반응에 영향을 미치는 것으로 알려진 기존 물질로는 brassinosterooids가 있지만[28], 본 연구에서 분

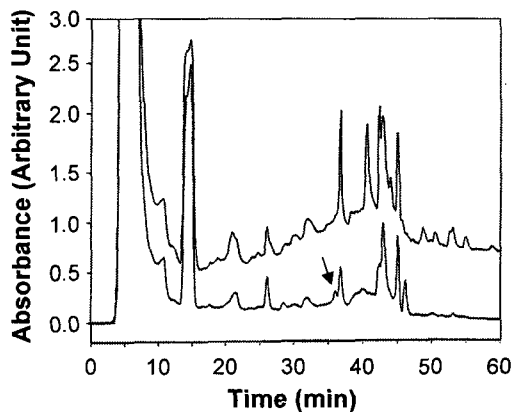


Fig. 7. Elution profiles of active substances from Nucleosil RP-C₁₈ analytical HPLC column by a methanol gradient. The methanol concentration was increased linearly from 40% to 90% in the presence of 0.3% acetic acid to suppress the pH. Flow rate was 0.8 ml/min during the separation period for 50 min. The lower line is the trace at 280 nm and the upper line is the Maxiplot indicating every peak without specified wavelength following the time. Active peak is indicated by an arrow.

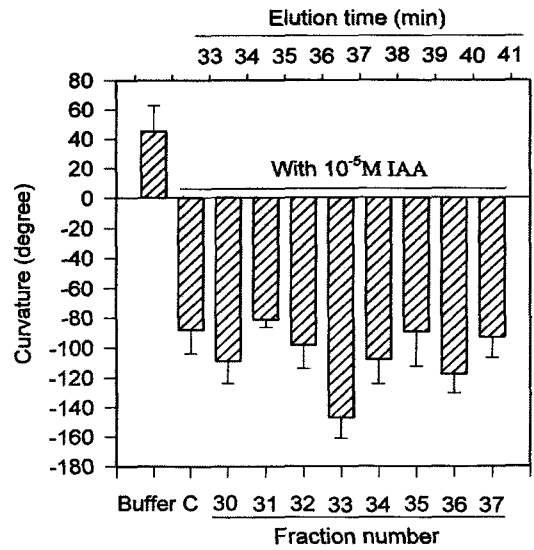


Fig. 8. Activity tests for the fractions resolved in the experiment presented in Fig. 7. Coleoptile slits (6 mm x 1 mm) were incubated with 10% of purified materials in the presence of 10⁻⁵M IAA for 24 hours. Vertical bars represent the standard deviation. C indicates the sample treated with IAA in the absence of purified CEF-2.

리한 물질이 brassinosteroid는 아닌 것으로 판단된다. 그 이유는 CEF-1과 CEF-2가 brassinosteroid와 달리 standard elongation assay에서는 뚜렷한 촉진효과를 나타내지 않았기 때문이다(unpublished data). 화학적 실체가 알려지지 않은 옥신 작용 촉진 물질은 메뚜기의 증장 추출물에서 발견되었는데, 이 물질은 옥신의 선량 반응곡선(dose-response curve)을 좌측(저농도측)으로 이동시켜 감수성을 증가시켰다[29]. 그러나 CEF들에 의해서는 반응이 증폭될 뿐 감수성 증가가 나타나지는 않았으므로 CEF와 메뚜기 증장 추출물에 들어있는 물질은 서로 다를 것으로 판단된다. 따라서 CEF는 이제까지 밝혀지지 않은 미지의 물질일 가능성이 높을 것으로 사료된다.

옥신의 작용이 나타나는 조직에 옥신 활성을 조절하는 물질들이 함께 존재한다는 사실은 옥신 작용에 요구되는 제 2의 요소가 존재할 것이라는 Hertel[30]의 제안을 지지하는 결과이다. 그러나 아직 CEF-1과 CEF-2의 작용 메커니즘이 밝혀지지 않았기 때문에 CEF-1과 CEF-2가 Hertel[30]이 제안한 바와 같이 옥신 수용체 상에 함께 결합하는 "co-auxin"에 해당하는 물질인지는 확인할 수 없었다. 따라서 CEF의 구조 결정과 더불어 이들의 작용 메커니즘에 관한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

요 약

옥수수(*Zea mays*) 자엽초 박편을 분리하여 완충용액에 띄워 배양하면 조직 내부와 외부 사이의 장력 차이에 의하여

밖으로 굽어진다. 그러나 외부에서 옥신을 처리하면 안으로 굽어지는 반응이 나타나는데, 그 반응 정도는 옥신 농도에 따라 변화하였다. 본 연구에서는 옥신에 의하여 자엽초 박편이 안으로 굽어지는 현상을 옥신과 함께 작용하는 물질들을 선별하기 위한 실험에 이용하였다. 옥수수 자엽초의 메탄올 추출물로부터, 옥신에 의해 안으로 굽어지는 자엽초 박편의 반응을 촉진하는 활성을 발견하였다. 이러한 촉진 활성은 에너지원과 관련된 현상은 아니었다. 활성물질은 pH 10과 같은 높은 pH에서도 C₁₈ 컬럼에 흡착되어 메탄올로 용리되었으며, 50% 메탄올과 80% 메탄올에 의하여 용리되는 두 가지 물질을 발견하고 각각 Curvature-Enhancing Factor-1 (CEF-1)과 Curvature-Enhancing Factor-2 (CEF-2)라 명명하였다. 그 중 CEF-2의 HPLC를 이용한 분리 조건이 확립되었다.

감사의 글

이 연구는 2004학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

참고 문헌

- Kefford, N. P. 1955a. The growth substances separated from plant extracts by chromatography I. *J. Exp. Bot.* **6**, 129-151.
- Kefford, N. P. 1955b. The growth substances separated from plant extracts by chromatography II. The coleoptile and root elongation properties of the growth substances in plant extracts. *J. Exp. Bot.* **6**, 245-255.
- Letham, D. S. 1978. Naturally-occurring plant growth regulators other than the principal hormones of higher plants. pp. 349-417, In Letham, D. S., P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins (eds), *Phytohormones and related compounds: A comprehensive treatise*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- Jacobs, M. and P. H. Rubery. 1988. Naturally occurring auxin transport regulators. *Science* **241**, 346-349.
- Faulkner, I. L. and P. H. Rubery. 1992. Flavonoids and flavonoid sulphates as probes of auxin-transport regulation in *Cucurbita pepo* hypocotyl segments and vesicles. *Planta* **186**, 618-625.
- Hasegawa, K., S. Togo, M. Urashima, J. Mizutani, S. Kosemura and S. Yamamura. 1992. An auxin-inhibiting substance from light-grown maize shoots. *Phytochem.* **31**, 3673-3676.
- Anai, T., H. Aizawa, N. Ohtake, S. Kosemura, S. Yamamura and K. Hasegawa. 1996. A new auxin-inhibiting substance, 4-Cl-6,7-dimethoxy-2-benzoxazolinone, from light-grown maize shoots. *Phytochem.* **42**, 273-275.
- Ricci, A., C.A. Maggiali, A. Torelli, S. Amorosi, F. Ronchini and C. Branca. 1996. Methoxylation modifies the activity of 1,2-benzisoxazole-3-acetic acid: 6,7-dimethoxy-1,2-benzisoxazole-3-acetic acid is an auxin antagonist in cytokinin mediated processes. *Plant Sci.* **117**, 151-158.
- Venis, M. A. and P. J. Watson. 1978. Naturally occurring modifiers of auxin-receptor interaction in corn: Identification as benzoxazolinones. *Planta* **142**, 103-107.
- Hoshi-Sakoda, M., K. Usui, K. Ishizuka, S. Kosemura, S. Yamamura and K. Hasegawa. 1994. Structure-activity relationships of benzoxazolinones with respect to auxin-induced growth and auxin-binding protein. *Phytochem.* **37**, 297-300.
- York, W. S., A. G. Darvill and P. Albersheim. 1984. Inhibition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-stimulated elongation of pea stem segments by a xyloglucan oligosaccharide. *Plant Physiol.* **75**, 295-297.
- McDougall, G. J. and S. C. Fry. 1988. Inhibition of auxin-stimulated growth of pea stem segments by a specific nonasaccharide of xyloglucan. *Planta* **175**, 412-416.
- McDougall, G. J. and S. C. Fry. 1989a. Anti-auxin activity of xyloglucan oligosaccharides: the role of groups other than the terminal α -L-fucose residue. *J. Exp. Bot.* **40**, 233-238.
- McDougall, G.J. and S.C. Fry. 1989b. Structure-activity relationships for xyloglucan oligosaccharides with antiauxin activity. *Plant Physiol.* **89**, 883-887.
- Branca, C., G. De Lorenzo and F. Cervone. 1988. Competitive inhibition of auxin-induced elongation by α -D-oligogalacturonides in pea stem segments. *Physiol. Plant.* **72**, 499-504.
- Bellincampi, D., G. Salvi, G. De Lorenzo and F. Cervone. 1993. Oligogalacturonides inhibit the formation of roots on tobacco explants. *Plant J.* **4**, 207-213.
- Auxtova, O., D. Liskova, D. Kakoniová, M. Kubackova, S. Karacsonyi and L. Bilisics. 1995. Effect of galactoglucomannan-derived oligosaccharides on elongation growth of pea and spruce stem segments stimulated by auxin. *Planta* **196**, 420-424.
- McDougall, G. J. and S. C. Fry. 1990. Xyloglucan oligosaccharides promote growth and activate cellulase: evidence for a role of cellulase in cell expansion. *Plant Physiol.* **93**, 1042-1048.
- Röhrig, H., J. Schmidt, R. Walden, I. Czaja, E. Miklasevics, U. Wieneke, J. Schell and M. John. 1995. Growth of tobacco protoplast stimulated by synthetic lipochitooligosaccharides. *Science* **269**, 841-843.
- Campbell, J. A., A. Drake, V. W. K. Lee and S. Strother. 1995. A putative oligosaccharin growth promoter from *Vitis vinifera* L. primary cell walls. *Ann. Bot.* **75**, 359-363.
- Corcoran, M. R., T. A. Geissman and B. Phinney. 1972. Tannins as gibberellin antagonists. *Plant Physiol.* **49**, 323-330.
- Kimura, Y., A. Tietz and S. Tamura. 1975. Stigmasteryl- β -D-glucoside as an auxin synergist. *Planta* **126**, 289-292.
- Nitsch, J. P. and C. Nitsch. 1961. Growth factors in the tomato fruit. pp. 687-707, In Klein R. M. *Plant Growth Regulation*. Iowa State University Press, Ames.
- Shibata, K., T. Kubota and S. Kamisaka. 1974. Isolation

and chemical identification of a lettuce cotyledon factor, a synergist of the gibberellin action in inducing lettuce hypocotyl elongation. *Plant Cell Physiol.* **15**, 191-194.

25. Sakurai, N., K. Shibata and S. Kamisaka. 1975. Stimulation of auxin-induced elongation of cucumber hypocotyl sections by dihydroconiferyl alcohol. Dihydroconiferyl alcohol inhibits indole-3-acetic acid degradation in vivo and in vitro. *Plant Cell Physiol.* **16**, 845-855.
26. Shibata, K., T. Kubota and S. Kamisaka. 1975. Dihydroconiferyl alcohol as a gibberellin synergist in inducing lettuce hypocotyl elongation. An assessment of structure-activity relationships. *Plant Cell Physiol.* **16**, 871-877.
27. Firn, R.D. 1986. Growth substance sensitivity: The need for clearer ideas, precise terms and purposeful experiments. *Physiol. Plant.* **67**, 267-272.
28. Mandava, N. B. 1988. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **53**, 453-461.
29. Dyer, M. I., A. M. Moon, M. R. Brown and D. A. Grossley. 1995. Grasshopper crop and midgut extract effects on plants: an example of reward feedback. *Proc. Natl. Acad. USA* **92**, 5475-5478.
30. Hertel, R. 1993. A critical view on proposed hormone action: The example of auxin. pp. 1-15, In Smith C. J., J. Gallon, D. Chiatante and G. Zocchi (eds) *Biochemical Mechanism of Growth Regulation*. Oxford Univ. Press, Oxford.