

## 벼 shaker like potassium channel들의 특성과 기능

황현식 · 김현미 · 정미나 · 김동현 · 변명옥 · 김범기

### Characteristics and functions of shaker like potassium channels in rice

Hyunsik Hwang · Hyunmi Kim · Mina Jeong · Donghern Kim · Myung-Ok Byun · Beom-Gi Kim

Received: 1 November 2010 / Accepted: 15 November 2010  
© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** Potassium ( $K^+$ ) is one of the most abundant cations in higher plant. It comprises about 10% of plant dry weight and it plays roles in numerous functions such as osmo- and turgor regulation, charge balance of plasma membrane and control of stomata and organ movement. Several potassium transporters and potassium channels regulate  $K^+$  homeostasis in response to  $K^+$  uptake systems. In this review, we describe the biological, biochemical and physiological characteristics of shaker like potassium channels in higher plant. Especially, we searched the rice genome databases and analyzed expressed genes, genome structures and protein domain characteristics of shaker like potassium channels.

**Keywords** plant potassium channel, shaker like, rice

#### 서론

식물 생장에 필수적인 무기 영양소 중  $K^+$  (potassium) 이온은 식물체 내에서 가장 풍부한 양이온으로서 조직이나 식물에 따라 다르나 mM 수준의 농도로 식물 세포에 존재한다.  $K^+$  이온은 호흡과 광합성에 필요한 효소들의 활성 조절, 세포막 전위차 (plasmamembrane potential)의 조절, 그리고 음이온 그룹과의 전기적 중성화 등을 통해 세포의 항상성 유지, 팽압 조절, 세포 신장, 기공 개폐 과정 등에서 중요한 역할을 수행한다 (Lebaudy et al. 2007; Gam-

bale and Uozumi 2006). 이러한  $K^+$  흡수, 배출 및 이동에 관여하는 운반체들을  $K^+$  운반체 (potassium transporter)라 칭하며, 애기장대의 genome에는 약 35개의 유전자가  $K^+$  운반체를 암호화하고 있다고 추정된다. 이러한  $K^+$  운반체는 2종류의  $K^+$  channels, Trk/HKT transporter, KUP/HAK/KT transporter, 그리고  $K^+/H^+$  antiporter 유전자 군 (family)로 구분된다.  $K^+$  운반체들 중  $K^+$  channel은 식물체내와 세포막에서의 기능, 그리고  $K^+$ 의 운반특성과 전기 생리학적 특성이 가장 잘 알려진  $K^+$  운반체이다.  $K^+$  channel은 단백질 구조의 차이를 근거로 KCO (two-pore  $K^+$  channel)와 shaker like potassium channel (1P/6TM  $K^+$  channel) 두 가지의 유전자 군으로 구분된다 (Maser et al. 2001).  $K^+$  이온은 뿌리를 통해 흡수되지만 일반적으로 세포질내의 농도가 약 100-200 mM로 높고 이에 반해 토양의  $K^+$  이온 농도는 약 1-10  $\mu$ M 이기 때문에 농도 구배에 반하여 이동되어야 한다. 이처럼 삼투압을 거스르는  $K^+$ 의 이동은 세포막  $H^+$  ATPase에 의해서 생성된 약 -150 mV의 세포막 전위차 및 세포막 내, 외부에서 약 2정도의 차이를 보이는 pH차이에 의해서 발생하는 전위차로 설명할 수 있으며, 이러한 세포막의 전위차에 반응하여 활성화되는 voltage dependent potassium channel로서 shaker like potassium channel 들이 가장 일반적이다. 본 논문에서는 세포의  $K^+$  흡수와 배출에서 주요한 기능을 수행하는 shaker like potassium channel 들에 대한 고등식물에서의 연구결과들을 정리하고 특히 벼에 대하여 이들 유전자들의 genome구조와 단백질 domain특성 등을 조사하여 벼의 shaker like potassium channel 유전자의 기능 연구에 기초 자료로 활용하고자 한다.

식물의 Shaker like potassium channel 유전자들의 분리

Shaker like potassium 채널 단백질은 몸을 떨거나 진동하는 돌연변이 초파리의 원인 유전자를 발견하고 이 유전

H. S. Hwang · H. M. Kim · M. N. Jeong · D. H. Kim · M.-O. Byun · B.-G. Kim (✉)  
농촌진흥청 국립농업과학원 농업생명자원부 신작물개발과  
(Bio-crop Development Division, Department of Agricultural Bio-resources, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-857, Korea)  
e-mail: bgkimpeace@korea.kr

자에 의해 암호화 되어 있는 단백질이  $K^+$  채널 (Tempel et al. 1987)이라는 것이 밝혀지면서 shaker potassium channel로 명명되었다. 이후 다양한 생물 군에서 유사한 potassium channel들이 발견되고 이들을 shaker like potassium channel이라고 명명하였다. 식물의 경우 효모의  $K^+$  흡수 능력 결핍 돌연변이체를 회복시킬 수 있는 cDNA가 애기장대로부터 분리되었으며, 이것이 초파리의 shaker potassium channel과 단백질 구조가 유사하다는 것을 통하여 식물체로부터 최초의 shaker like  $K^+$  channel인 KAT1과 AKT1이 분리되었다 (Anderson et al. 1992; Schachtman et al. 1992). 그 후로 감자 (SKT family) (Zimmermann et al. 1998), 토마토 (LKT1) (Hartje et al. 2000), 당근 (DKT, KDC family) (Downey et al. 2000; Formentin et al. 2004), 옥수수 (KZM, ZMK family) (Buchsenschutz et al. 2005; Philippar et al. 2003) 보리 (Boscari et al. 2009) 및 벼 (OsAKT1, OsKAT1) (Fuchs et al. 2005; Obata et al. 2007) 등의 여러 다른 식물 종으로부터 shaker like potassium 채널 단백질들이 분리되어 연구되고 있다. 이들 유전자들은 주로 애기장대의 shaker like potassium channel들과의 염기서열 상동성 그리고 효모를 이용한 functional complementation 및 patch clamp를 이용한 전기 생리학적 연구를 통하여 유전자들이 분리 동정 및 특성 분석이 이루어졌다. 최근에는 다양한 식물체들에 대한 전체 염기서열 분석이 완료됨에 따라 유전체에 대한 분석을 통하여 이들 유전자가 분리되고 있다.

#### 식물의 Shaker like potassium channel 그룹 단백질의 특성

Shaker like potassium 채널 단백질을 포함한 수송 단백질들의 연구와 전체 유전체에 대한 분석을 통하여 현재까지 모델식물인 애기장대에서 최소 35개의  $K^+$  운반체 유전자들이 존재하는 것으로 유추되고 있으며, 이들은 KCO, shaker, Kir like와 같은 채널 단백질들과 기타 수송 단백질들로 구성되어 있다 (Very and Sentenac 2003). 그 중 shaker like  $K^+$  channel들은 4개의 단백질들이 homo 혹은 hetero 단백질로 복합체를 이룸으로써 기능을 수행하게 된다. 각 단백질은 alpha-subunits이라 불리며 전체적으로 S1-S6라는 6개의 막 횡단 도메인 (transmembrane domain) 구조로 이루어져 있다. 세부적으로는 짧은 N-terminal 지역, voltage sensor (주로 S1-S4 지역), pore (P) domains (S5-S6사이의 지역) 그리고 C-terminal domain (CNBD (cyclic nucleotide binding domain)와 ankyrin repeat domain)들로 구성되어 있다 (Fig. 1A).  $K^+$  channels의 P domains 내에는 GYGD/E motif라는 selective filter가 잘 보존되어 있고 4개의 P domain들이 이온이 통과할 수 있는 channel conduction pathway를 구조적으로 형성함으로써 비로소 생체 활성을 가질 수 있는 것으로 보고되어 있다 (Heginbotham et al. 1992; Hille 1986). Potassium channel이 막 전위차를 인식하

는 부위는 양전자를 띠는 아미노산들로 구성된 4번째 transmembrane domain (S4)의 voltage sensor 부위이다 (Bannister et al. 2005). 세포질 쪽으로 길게 뻗은 구조를 하고 있는 C-terminal domain은 채널들간의 상호작용, 인산화와 탈인산화에 의한 활성조절이 이루어지는 지역으로 알려져 있다. Shaker like potassium channel 그룹은 크게 KAT 그룹과 AKT 그룹으로 분류되며, KAT 그룹과 AKT 그룹의 구조적인 차이는 C-terminal 지역의 도메인 중 ankyrin repeat 도메인의 유무로서 쉽게 알 수 있다.

#### 식물의 shaker like potassium channel의 생물학적 기능

##### 뿌리를 통한 $K^+$ 이온의 흡수

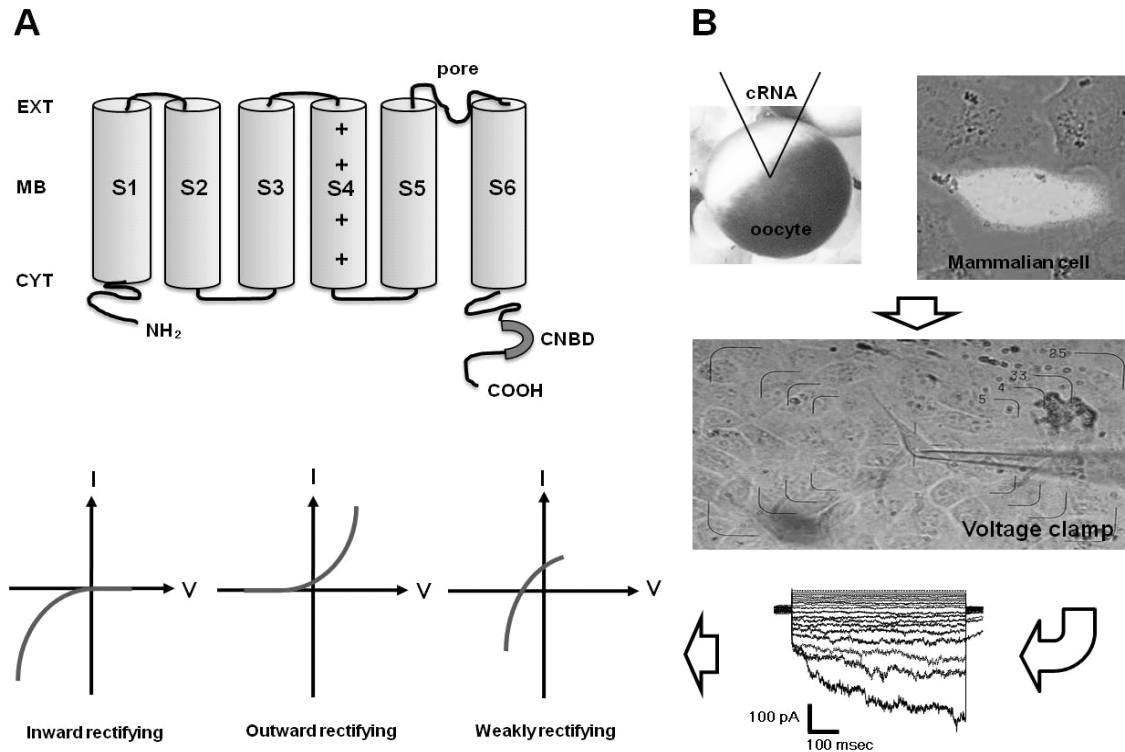
애기장대 shaker like potassium channel들 중 AKT1은 뿌리와 지상부의 표피세포에서 주로 발현되며 tetrameric 구조를 형성하는 내향적 (inward rectifying) 채널 단백질이다. AKT1은 토양으로부터  $K^+$  이온의 흡수를 담당하는  $K^+$  channel이다. AKT1은 세포막의 전위가 충분히 hyperpolarization 되어 있을 시 활성화되어 세포 외부 즉 토양의  $K^+$  이온 농도가 마이크로 몰 수준으로 낮더라도 흡수가 가능하며,  $K^+$  이온에 대한 높은 선별적인 투과성과 친화도를 갖고 있어 특별히 저 농도의  $K^+$  이온을 함유하고 있는 토양에서  $K^+$  흡수에 중요한 역할을 한다고 생각된다 (Cheong et al. 2007; Li et al. 2006). 이 외에도 regulatory subunit인 KC1 채널 단백질은 AKT1 채널 단백질과 heterotetramer 구조를 형성하여 뿌리의 표피세포에서의  $K^+$  이온 흡수를 더욱 촉진한다고 알려져 있다 (Reintanz et al. 2002).

##### $K^+$ 의 원거리 이동 (long distance transport)

1998년에 reverse genetics 방법으로 애기장대로부터 동정된 외향성 (outward rectifying) 채널 단백질인 SKOR은 뿌리의 stellar 세포뿐만 아니라 pericycle과 xylem parenchyma 세포에 존재하며 xylem sap으로  $K^+$  이온을 배출시켜 지하부에서 흡수된  $K^+$  양의 약 50%를 지상부로 이동시킨다. AKT2와 KAT2는 체관부에 존재하며 AKT2는 잎과 뿌리의 체관에서  $K^+$  이온을 sink organ으로 배출시키며, KAT2는 체관의 companion 세포에 존재하며  $K^+$  이온을 잎의 다른 세포로 배출시키는 것으로 알려져 있다 (Cherel et al. 2002; Michard et al. 2005).

##### 공변세포에서 $K^+$ 의 흡수조절과 기공 개폐조절

Shaker like  $K^+$  channel들은 세포막을 통해 매우 빠르게  $K^+$  이온을 통과시킴으로써 공변세포의 팽압을 조절하여 기공의 개폐를 가능하게 하는 매우 중요한 기작의 중심에 있다. 공변세포의 세포막에서  $K^+$ 의 전도도 (conductance)를 조절하는 대표적인 채널 단백질은 애기장대로부터 처음으로 분리, 동정되었던 내향적 채널 단백질인 KAT1,



**Fig. 1** Diagram and functional types of plant shaker like potassium channels. A. Schematic representation of the six transmembrane segments, p-loop segment and the CNBD characterizing the entire shaker like K<sup>+</sup> channel subunit in plants. B. Upper panel: After expression of K<sup>+</sup> channel in heterologous system, channel activity is measured by patch clamp analysis. Lower panel: Current-voltage (I-V curve) relationship illustrate the functional types encountered in the plant shaker K<sup>+</sup> channel families. Channels forming inwardly-rectifying, outwardly-rectifying, weakly-rectifying conductance are found in the shaker K<sup>+</sup> channel family. Abbreviations: EXT/CYT, extracellular/cytoplasmic side; MB, membrane; CNBD, cyclic nucleotide binding domain; +++, positively charged amino acids in the channel voltage sensor

KAT2와 외향적 채널 단백질인 GORK (guard cell outward rectifying K<sup>+</sup> channel)이다. ABA 신호 전달과정에 의해서 SLAC1 채널 단백질이 활성화되어 음이온이 배출되고 공변세포에 depolarization이 야기되면 GORK가 활성화되어 K<sup>+</sup> 이온이 배출되고 그 결과로 공변 세포의 water potential이 외부에 비하여 높아져 water loss가 일어나고 그 결과 기공의 닫힘이 야기된다. 한편 기공의 열림 시에는 빛 등의 외부 요인에 의하여 세포막의 H<sup>+</sup> ATPase가 활성화되어 H<sup>+</sup> 이온이 배출되고 세포막의 hyperpolarization이 야기되어 KAT1과 같은 내향적 K<sup>+</sup> channel이 활성화되어 K<sup>+</sup> 이온을 흡수함으로써 공변 세포의 water potential이 낮아져 물이 유입되고 그 결과로 공변 세포가 팽창하여 기공의 열림을 유도하는 것으로 알려졌다 (Kwak et al. 2001). 이처럼 shaker like potassium channel은 공변 세포에서 가장 중요한 삼투조절제 (osmolyte)로서 역할을 하는 K<sup>+</sup> 이온을 직접적으로 흡수 배출하는 역할을 수행함으로써 기공 개폐 조절을 위한 가장 중요한 대상들 중 하나로서 연구되고 있다 (Kwak et al. 2001).

식물의 shaker like potassium channel들의 전기 생리학적 특성

식물의 shaker like potassium channel들은 고도로 K<sup>+</sup> 선택적이며 이들의 전기 생리학적 특성에 따라서 내향적 (inward rectifying)과 외향적 (outward rectifying) 그리고 약하게 정류적 (weakly inward rectifying)으로 구분된다. 식물 shaker like potassium 채널단백질들은 모두 세포막 전위차에 의해 활성이 조절되는 voltage gated selective K<sup>+</sup> channel들이다. 세포막 전위의 hyperpolarization에 의해 활성화되는 shaker like potassium 채널 단백질 군이 바로 내향적 (inward rectifier) 채널이다. 애기장대로부터 규명된 첫 번째 내향적 K<sup>+</sup> channel은 KAT1과 AKT1이다. 이 유전자들은 모두 K<sup>+</sup> 흡수능력 결여 (uptake deficient) 효모 돌연변이에 대한 상보성 실험을 통하여 그 기능적 분석이 이루어졌다 (Anderson et al. 1992; Schachtman et al. 1992). 두 번째 shaker like potassium 채널 단백질 그룹은 외향적 (outward rectifier) 채널 단백질이다. 이 그룹에는 depolarization activated K<sup>+</sup> channel인 SKOR (stellar K<sup>+</sup> outward rectifier)과 GORK (guard cell outward rectifying potassium channel)가 소속되어 있다

(Gaymard et al. 1998). 그 외에도 AKT2와 같은 약하게 정류적 (weakly inward rectifier) 채널 단백질 그룹으로 구분될 수 있다.

채널 단백질의 이온 선별성 (ionic selectivity), 막 전위 감수성, pH 감수성 그리고 활성 억제 물질과 촉진 물질과 같은 정보는 식물의 채널 단백질에 대한 전기 생리학적 특성 연구를 통하여 얻을 수 있는 매우 중요한 정보이다. 세포막 내에서 채널 단백질의 전기 생리학적 특성을 분석할 수 있는 기법으로서 patch clamp 방법이 주로 이용되고 있다. 이 방법은 식물의 채널 단백질을 heterologous system에서 발현시켜 전류의 흐름을 측정하고 채널의 활성과 특성을 측정하는 수단이다. 식물의 shaker like potassium channel을 발현시키고 특성을 분석하기 위한 재료로서 *Xenopus oocytes*가 주로 사용되었으며, 이 외에도 곤충 세포나 포유류 세포 (S/9, COS, CHO or HEK cell cultures) 등이 이용되고 있다 (Fig. 1B).

Heterologous 시스템을 통하여 이온 채널 각각의 특성을 세밀히 분석함과 동시에 다양한 식물 세포나 조직 (root cortex, root hairs, xylem parenchyma, guard cell, mesophyll 등)에서 직접 그 활성을 측정하여 식물체의 shaker like potassium channel들의 특성들이 증명되었다 (Hurst et al. 2004; Bei and Luan 1998; Hossy et al. 2005) (Fig. 1B).

식물의 shaker like potassium channel 단백질의 활성 조절

#### 인산화와 탈인산화 반응 (Phosphorylation and dephosphorylation)

ATP 처리시 mesophyll 세포에서  $K^+$  channel의 활성이 변화됨을 관찰함으로써 인산화 효소 (kinase)가  $K^+$  channel 활성에 중요한 역할을 수행할 수 있음을 예상할 수 있었으며, bovine PKA (protein kinase A)를 직접 *Vicia faba* (잠두) mesophyll 세포에 주입하여 outward  $K^+$  current의 증가를 확인하였다. 반대로 동물에서 사용되는 PKA (protein kinase A) 저해제 처리시  $K^+$  current가 감소한다는 것을 알았다 (Spalding and Goldsmith 1993; Li et al. 1994). 또한 phosphatase B의 저해제인 cyclosporine A와 FK506 complex를 처리하여 잠두 (*Vicia faba*) 공변 세포에서 inward  $K^+$  current의 감소를 관찰하였으며, phosphatase 1 과 2A의 저해제인 calyculin A와 okadaic acid를 처리시 공변 세포에서 inward  $K^+$  current를 저해하고, outward current에는 영향을 미치지 않으며, phosphatase 2C의 일종인 AB11-1 dominant negative 과발현체에서 공변 세포의  $K^+$  current가 ABA에 insensitive하다는 것을 알았다. 위와 같은 일련의 pharmacological 접근과 전기 생리학적 접근에 의해서 인산화와 탈인산화가 shaker like potassium channel의 활성화와 비활성화에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있었다 (Luan et al. 1993; Armstrong et al. 1995; Wu and Assmann 1995). 이후 shaker

like potassium channel의 인산화 및 탈인산화 원인 유전자를 분리하기 위한 연구들이 진행되었다. 애기장대 AKT2의 세포질영역 C-terminal 지역과 AtPP2CA의 C-terminal catalytic domain 사이의 상호작용이 yeast two hybridization에 의해서 확인되었고, *Xenopus oocyte*를 이용하여 두 개의 단백질을 동시 발현하였을 경우 AKT2 채널 단백질의 활성이 변화되어 본래의 약한 leak like conductance를 내향적 (inward rectifying) 성질로 변화시킨다고 발표되었고, 이것이 phosphatase와 shaker like  $K^+$  channel과의 물리적인 상호 작용이 channel 활성을 변화시킨다는 최초의 보고였다 (Cherel et al. 2002). 또한 calcium 결합 단백질인 CBL (calcineurin B like protein)과 상호작용하는 CIPK23이 AKT1 channel과 상호 작용하고 AKT1을 인산화하여 활성을 조절한다는 것이 보고되었고 CIPK23은 calcium 결합단백질인 CBL1과 CBL9에 의해서 활성화되며, 세포막으로 이동된다는 것이 보고되어 CBL-CIPK-AKT1의 complex network에 의해서 채널 활성이 조절된다는 것이 보고되었다 (Cheong et al. 2007; Li et al. 2006). 또한 탈인산화 효소인 PP2CA가 직접적으로 AKT1과 상호작용하여 AKT1의 활성을 음성적으로 조절한다는 것을 보고함으로써, 이전에 밝혀졌던 생리적인 결과들의 분자적 메커니즘이 밝혀지게 되었다 (Lee et al. 2007). ABA에 의해 활성화되는 SnRK 2.6 kinase 또한 KAT1 channel 활성을 조절한다는 것이 밝혀지면서 (Sato et al. 2009) 이들 kinase와 phosphatase 그리고 shaker like potassium channel들의 직접적인 상호작용과 인산화 및 탈인산화가 shaker like potassium channel의 일반적인 활성조절 메커니즘임이 밝혀지게 되었다.

#### Shaker like potassium channels과 이와 상호작용하는 단백질 사이의 조절

이 외에도 채널 단백질의 조절 및 활성에 결정적으로 영향을 미치는 많은 단백질들로서  $\beta$  subunit (Tang et al. 1996; Zhang et al. 1999), actin skeleton proteins (Hwang et al. 1997), G proteins (Fairley-Grenot and Assmann 1991; Wang et al. 2001), syntaxins (Leyman et al. 1999), 14-3-3 protein (Saalbach et al. 1997; Sottocornola et al. 2006)들이 보고되고 있으며, 이들 각각의 단백질들에 대하여 자세히 살펴보고자 한다.

동물세포에서 먼저 연구된 바에 의하면 oxidoreductase라고 명명된  $\beta$  subunit이 shaker  $K^+$  채널 단백질 ( $\alpha$  subunit)의 세포질 쪽 C-terminal 지역과 결합함으로써 복합체를 형성하고 이 복합체는 채널 단백질의 활성을 증가시키는 것으로 알려졌다. 이후 식물체의  $\beta$  subunit (KAB1 단백질) 유사 단백질과 식물 shaker  $K^+$  채널 단백질 KAT1을 *Xenopus oocytes*에서 동시 발현시켰을 경우에도 gating 능력에는 차이가 없었으나  $K^+$  current의 크기가 증가한다는 보고가 있으므로 식물에서도  $\beta$  subunit이  $K^+$  채널 단백질

과 복합체를 구성하여 채널 활성을 조절한다는 것을 알 수 있었다 (Zhang et al. 1999). 담배에서 14-3-3 단백질을 과발현 시 mesophyll의 원형질체에서 outward  $K^+$  conductance가 증가되는 것을 관찰하였으며, 애기장대의 KAT1 과 14-3-3을 *Xenopus oocyte*에서 동시 발현시킬 경우 KAT1의 전류가 증가되는 것을 확인함으로써, 14-3-3이 직접적으로 shaker like potassium channel과 결합하여 그 활성을 조절 한다는 것을 확인할 수 있었다 (Saalbach et al. 1997; Sottocornola et al. 2006).

잠두 (*Vicia faba*)에서 G protein의 활성화제인  $GRP\gamma S$ 는 공변세포의 inward rectifying  $K^+$ 와 mesophyll 세포의 outward  $K^+$  current를 감소시켰으며 반대로 G protein의 억제제인 GDPBS는 xylem parenchyma 세포에서  $K^+$ 의 inward conductance를 증가시켰다 (Li and Assmann 1993; Wegner and De Boer 1997). 이러한 생리적인 실험 결과를 통하여 G protein과  $K^+$  channel 활성조절 사이의 상관관계가 있음을 알았으며, 유전학적 방법을 통하여 G protein alpha subunit인 GPA1 knock-out 돌연변이체의 기공세포  $K^+$  current를 조사한 결과 ABA에 의한  $K^+$  current의 감소를 보이지 않았으므로 G protein 신호전달과정을 통하여 기공의 inward  $K^+$  channel의 활성이 조절된다는 것이 증명되었다 (Wang et al. 2001).

세포 내 팽압의 변화는  $K^+$  current와 actin filament의 구조에 영향을 미치므로 actin skeleton은 공변세포의  $K^+$  channel 활성을 조절한다고 생각되었었다. 이를 증명하기 위하여 actin 복합체 형성 억제 물질과 안정 물질을 처리하여 관찰한 결과 *Vicia faba* 공변 세포에서 inward  $K^+$  channel들은 actin depolymerization을 유도하는 cytochalasin D에 의해서 활성화되고 actin polymerization을 안정화시키는 phalloidin에 의해서 억제된다는 것이 알려졌다 (Hwang et al. 1997). 담배의 syntaxin 단백질 중의 하나인 Nt-Syr1의 일부 도메인만을 담배에 과발현시켜 ABA 처리시 공변세포  $K^+$  current가 억제되지 않는 현상이 관찰되었으며, 또한 ABA 처리시 세포막에 있는 KAT1 channel의 선별적인 endocytosis를 유발하여 endosomal membrane으로 격리시켜서 세포막에서의 KAT1 channel 활성을 감소시키는 작용을 하며 endosomal membrane의 KAT1 channel은 다시 세포막으로 환원된다는 것이 밝혀졌다 (Hurst et al. 2004; Meckel et al. 2004; Sutter et al. 2007). 이러한 채널 단백질 KAT1의 trafficking은 SNARE 단백질의 관여로 발생되며 KAT1 단백질의 C-terminal 지역의 di-acidic motif인 DXE/DXD에 결합하여 조절되는 것으로 알려져 있다 (Sutter et al. 2006; Mikosch et al. 2006). 이를 통하여 vesicle trafficking 또한  $K^+$  channel 활성을 조절하는 주요한 요소임을 알 수 있었다.

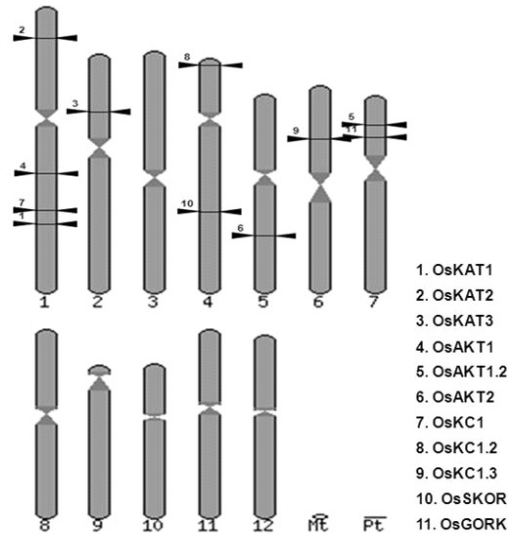
#### 벼의 Shaker like potassium channel 유전자그룹

현재까지의 연구결과를 살펴보면 애기장대 외에 옥수수,

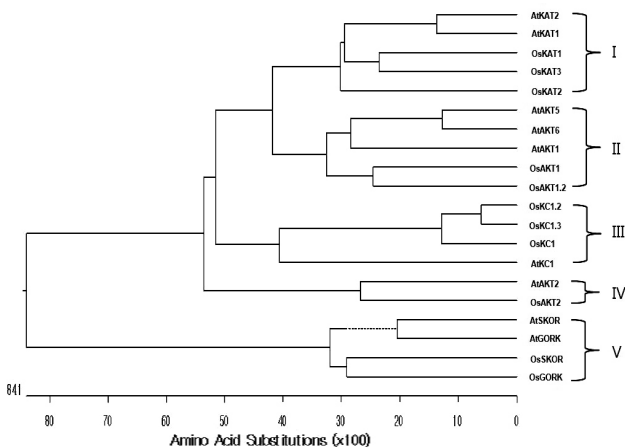
밀, 보리 등 몇몇 작물에서 역 유전학 (reverse genetics) 방법을 이용하여 shaker like potassium channel이 동정되고 주요 특성이 일부 보고되었지만 정작 단자엽 식물의 모델식물이며 전 세계 5대 주요 작물 중 하나인 벼에서 동정되고 특성 분석된 것은 별로 없는 실정이다. 벼로부터 분리 동정된 shaker like potassium 채널 단백질은 최근까지 내향적 성질 (inward rectifying)의 AKT1 (Fuchs et al. 2005)과 KAT1 (Obata et al. 2007) 두 유전자뿐이며 주로 salt stress와 연관된 연구 결과로서 shaker 채널 단백질 본연의 특성과 활성 연구는 미진한 편이다. 2005년에 보고된 벼의 OsAKT1은 애기장대 뿌리에서 주로 작용하는 AKT1과 상동성을 갖는 내향적 성질의 potassium channel 단백질로서 유묘기 벼의 뿌리와 초엽 (coleoptiles)에서 많은 양이 발현되며 salt stress하에서 전사량이 감소되는 것으로 알려져 있다. HEK293 세포에서의 expression system과 뿌리털 (root hair)의 표피세포를 통해 voltage dependent inward rectifying  $K^+$  channel로서의 특성이 확인되었으며 세포 외의  $Ca^{2+}$ 와 pH에 의해 활성이 조절되며 특히 salt stress 하에서 내향적 특징이 상당히 감소되는 현상을 확인할 수 있었다 (Fuchs et al. 2005). 2007년에 처음으로 보고된 벼의 OsKAT1은 salt sensitive한 특성을 갖는 효모를 이용한 검정을 통해 동정되었고  $K^+$  흡수 능력이 결핍된 효모를 통해 간접적으로 inward rectifier로서의 특징이 알려졌다며 효모와 벼 세포에서의 과발현이  $K^+/Na^+$  비율을 증가시킴으로써 salt stress 하에서 저항성을 증진시킬 수 있음이 보고되었다 (Obata et al. 2007).

#### 벼의 shaker like potassium channels 유전자들의 분리 및 동정

Rice genome으로부터 shaker like potassium channel을 동정하기 위하여 먼저 GRAMENE database ([http://www.gramene.org/Oryza\\_sativa/Info/Index](http://www.gramene.org/Oryza_sativa/Info/Index))와 식물 membrane 단백질 database인 ARAMENONE (<http://aramemnon.botanik.uni-koeln.de/index.ep>)을 이용하여 potassium channel을 분류하였다. 그 결과로 35개의 유력한 potassium channel 단백질들을 동정할 수 있었고 이러한 벼  $K^+$  channel 단백질 중 cyclic nucleotide gated channel (CNGC), two-pore  $K^+$  channel (KCO) 계열의 단백질 그룹들은 제거하고 오직 shaker like potassium channel 들만을 선별하기 위해 애기장대의 KAT1 단백질 서열 중 ion transport domain을 사용하여 Rice Genome Annotation Project Database (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)에서 제공하는 Genes in MUS Osa1 Rice Pseudomolecules-protein database를 이용하여 BLASTP2.0 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 이러한 방법을 통하여 E-value 값이  $e^{-15}$  이상으로 cut-off 한 결과 35개의  $K^+$  channel 단백질 중 Table 1에서 확인할 수 있듯이 애기장대에 존재하는 9개의 shaker 채널 유전자보다 많은 11개의 shaker like potassium channel



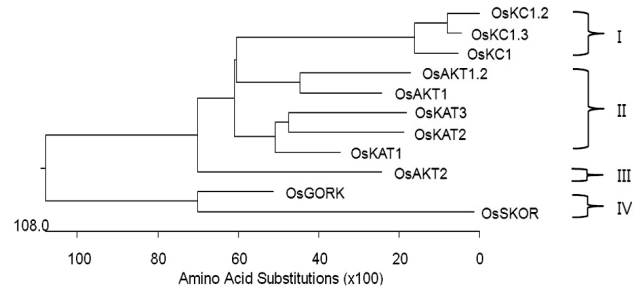
**Fig. 2** Genomic distribution of shaker like potassium channels on rice chromosomes. The rice K<sup>+</sup> channel genes are numbered 1 to 11. Chromosome numbers are indicated at the lower of each bar. The position of shaker like potassium genes search on gramene database



**Fig. 3** Phylogenetic tree of Arabidopsis and rice shaker like potassium channel sequences. The tree was generated by the Mega 3.1 program from the protein sequences of the 20 identified members of the plant shaker K<sup>+</sup> channel family. The different five groups are numbered using Roman numerals

단백질들을 동정할 수 있었다.

11개의 shaker like potassium channel들은 1번 염색체에 4개, 2번 염색체에 1개, 4번 염색체에 2개, 5번 염색체에 1개, 6번 염색체에 1개 그리고 7번 염색체에 2개가 고루 분포되어 있으며 그 외의 염색체에는 전혀 분포되어 있지 않았다 (Fig. 2). 11개의 shaker like potassium channel 단백질들은 기존에 보고 된 연구 체계를 바탕으로 명명되었고 Rice Genome Annotation Project Database로부터 annotation 된 full length cDNA와 단백질 정보를 바탕으로 이미 보고 된 애기장대와 함께 phylogenetic tree를 작성해 본 결과 애기장대에서 분류된 그룹과 같은 방식으로 동일한 유연성

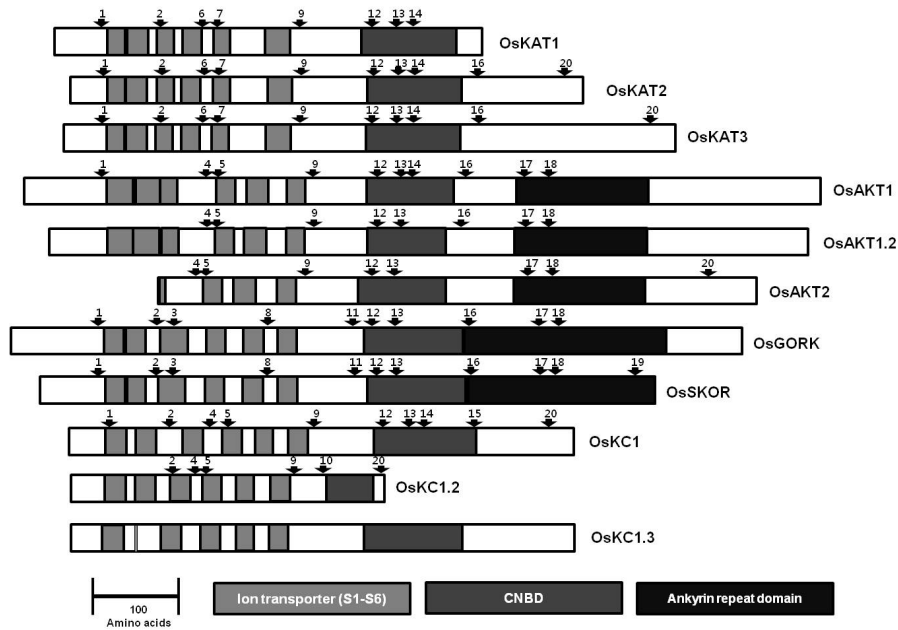


**Fig. 4** Phylogenetic relationship between rice shaker like K<sup>+</sup> channels based on protein analysis. Phylogram of the protein sequence was used by the CLUSTAL X program. The branch length is proportional to the evolutionary distance between the channels. 4 families are revealed and numbered by Roman numeral

을 지닌 5가지의 소 그룹 (I: KATs group, II: AKTs group, III: KC1 group, IV: AKT2 group, V: SKOR, GORK)으로 분류되었다 (Fig. 3).

벼에서 분리된 11개의 shaker like potassium channel만을 이용하여 phylogenetic tree를 작성해 보았을 때 기존 애기장대의 그룹화와 같은 4가지 그룹 (I - IV)인 내향성 단백질 그룹 (II, inward rectifier; KATs, AKTs family), 외향성 단백질 그룹 (IV, outward rectifier; SKOR, GORK), 약한 정류성 그룹 (III, weakly inward rectifier; AKT2), 그리고 보조적 단백질 그룹 (I, helper or regulatory subunit; KCs family)으로 구분되어졌다. 애기장대와 달리 내향성 단백질 그룹 (특히 KATs family)과 보조적 단백질 그룹 (KC family)에 속하는 단백질이 애기장대보다 좀더 많다는 점과 내향성 단백질 그룹 중에서 AKTs 그룹이 상대적으로 적다는 점 외에는 대체적으로 큰 차이가 없음을 알 수 있었다 (Fig. 4).

벼의 shaker like potassium channel 단백질의 도메인 분석 The ExPASy (Expert Protein Analysis System) proteomics server에서 제공하는 Pfam software (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)를 사용하여 K<sup>+</sup> channel의 transmembrane domain (ion transporter)과 cyclic nucleotide binding domain (CNBD) 그리고 ankyrin repeat domain들을 분석한 후 실측하여 shaker like potassium channel 단백질들의 일차원적 구조를 도식화 하였다 (Fig. 5). 그 결과로서 벼의 shaker like potassium channel 단백질들은 5개의 Inward rectifier, 2개의 outward rectifier 그리고 1개의 weekly rectifier와 3개의 regulatory subunit으로 정확히 구분되었다. OsAKT2를 제외한 나머지 10개의 shaker like K<sup>+</sup> channel에서 six transmembrane domain (S1-S6)이 잘 보존되어 있었으며 (특이하게도 OsAKT2는 S2-S6만 존재함), cyclic nucleotide binding domain (CNBD) 그리고 K<sup>+</sup> selective pore forming region인 GYGD motif는 11개 유전자 모두에서 잘 보존되어 있으며 구조적 상동성이 매우 높음을 확인할 수 있었다. 벼에 존재하는 3개의 KAT channel들은 일차원상의 구조적 관점에서 보았을 때



**Fig. 5** Diagrammatic structure of the rice shaker like potassium channel proteins and localization of the intron positions. Blocks represent the different structural domains. Domain lengths are drawn to scale. The intron positions are indicated by numbered (1-20)

**Table 1** The shaker like potassium channel gene family in rice

TIGR Loc id	Gene Name	Accession No	Hit Score	E value	cDNA size (bp)
Os01g55200	OsKAT1	NM_001050825	863	4.8e-87	1509
Os01g11250	OsKAT2	NM_001048905	614	1.2e-60	1707
Os02g14840	OsKAT3	NM_001052957	884	2.9e-89	2157
Os01g45990	OsAKT1	NM_001050248	724	2.6e-72	2808
Os07g07910	OsAKT1.2	-	681	9.3e-68	2676
Os05g35410	OsAKT2	NM_001062149	573	2.6e-56	2112
Os01g52070	OsKC1	NM_191783	528	1.5e-51	1782
Os04g02720	OsKC1.2	AL606631	391	5.0e-37	1107
Os06g14310	OsKC1.3	-	537	2.6e-56	1776
Os04g36740	OsSKOR	NM_001059433	386	1.0e-35	2169
Os06g14030	OsGORK	NM_001063828	401	4.1e-15	2577

모든 domain들이 매우 높은 상동성을 보여주지만 단지 세포질 방향으로 향하여 존재하리라 예상되는 CNBD 뒷부분의 C-termini 부위의 단백질 서열의 길이에서 많은 차이가 남을 확인할 수 있었다 (OsKAT1은 애기장대와 달리 매우 짧음). 이러한 차이점은 애기장대와 다른 특이점이며 채널의 기능적 특징과 연관될 수 있을 것으로 여겨진다. OsKC1 그룹은 3개의 단백질로 구성되어 있으며 이는 애기장대와 상당한 차이점 중의 하나이며, 그 중 두 개의 단백질만이 애기장대와 상당한 유의성을 보여 주었다. OsKC1.2는 CNBD 뒷부분의 C-termini 단백질 서열 대부분이 결핍되어 있음을 알 수 있었고 이는 그 기능을 상실한 염색체 상의 pseudogene일 가능성이 있을 것으로 여겨진다. OsAKTs 그룹과 OsSKOR, OsGORK만이 애기장대와

유사하게 ankyrin repeat domain을 포함하고 있으며, OsAKT2는 애기장대의 AKT2와 상동성을 갖고 있지만 ion transporter domain중 S1과 S2가 결핍된 구조적 차이점을 가지고 있다.

### 벼의 shaker like potassium channel 유전자의 intron 구조 분석

Rice Genome Annotation Project Database 의 genome browser software를 통해 11개의 벼 shaker like potassium채널 유전자들의 genomic 염기서열과 coding 염기서열을 확보하였고 NCBI에서 제공하는 splign software (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sutils/splign/splign.cgi>)를 활용하여 각 유전자들의 인트론 위치를 단백질 서열에 상응하여 분석하였다 (Fig. 5). OsAKT1 단백질 서열을 기준으로 하여 Domain 구조 별로 실측된

**Table 2** Distribution of the introns in the Shaker like potassium channels in rice

No	Position In protein sequence	Phase										
			I			II		III	IV		V	
			OsKAT1	OsKAT2	OsKAT3	OsAKT1	OsAKT1.2	OsAKT2	OsGORK	OsSKOR	OsKC1	OsKC1.2
1	102R	2	O	O	O	O	—	—	O	O	O	—
2	174R	2	O	O	O	—	—	—	O	O	O	O
3	180K	2	—	—	—	—	—	—	O	O	—	—
4	224R	2	—	—	—	O	O	O	—	—	O	O
5	243C	0	—	—	—	O	O	O	—	—	O	O
6	263R	2	O	O	O	—	—	—	—	—	—	—
7	269S	0	O	O	O	—	—	—	—	—	—	—
8	301V	1	—	—	—	—	—	—	O	O	—	—
9	349Y	0	O	O	O	O	O	O	—	—	O	O
10	392E	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	O
11	399K	0	—	—	—	—	—	—	O	O	—	—
12	431L	0	O	O	O	O	O	O	O	O	O	—
13	464V	0	O	O	O	O	O	O	O	O	O	—
14	475Q	0	O	O	O	O	—	—	—	—	O	—
15	518L	0	—	—	—	—	—	—	—	—	O	—
16	537Q	0	—	O	O	O	O	—	O	O	—	—
17	603L	0	—	—	—	O	O	O	O	O	—	—
18	629R	1	—	—	—	O	O	O	O	O	—	—
19	731R	1	—	—	—	—	—	—	—	O	—	—
20	889A	1	—	O	O	—	—	O	—	—	O	O
Intron No			8	10	10	10	8	8	10	11	10	6

The 20 possible intron positions within the shaker like potassium channel genes are presented by reference to amino acid sequence. The intron positions were localized in the multiple sequence alignment according to the OsAKT1 protein sequence, used here as a reference. The numbers (0,1,2) in the 'phase' refer to the the position of the introns within the codon ; 0 (phase zero introns), 1 (first base codon), 2 (second base codon), respectively. O means present, - means absent

11개의 K<sup>+</sup> 채널 단백질 위에 각각의 인트론 위치를 표시하고 같은 origin으로 파악되는 위치의 아미노산 서열에 N-terminal 지역으로부터 숫자로 표시해 본 결과 20개의 서로 다른 인트론 위치를 확인할 수 있었다. 인트론 위치를 일차원적 구조로 분석한 결과 먼저 모든 인트론은 애기장대와 마찬가지로 프로모터 지역과 유전자 서열 구조상의 5'과 3' untraslation 지역에서는 확인되지 않았고 대부분의 인트론 크기는 200 base pair (bp) 내에 속하지만 애기장대에 비해 비교적 큰 인트론 (200~3000 bp)이 존재함을 알 수 있었다. 이는 유전자의 인트론 크기가 다름에 따라 전사의 조절도 다를 수 있음을 의미한다고 보여진다. 특이하게도 OsKC1.3은 전혀 인트론을 포함하고 있지 않았고 OsAKT1.2와 OsAKT2 (8개의 인트론) 그리고 OsKC1.2 (6개 인트론)를 제외한 7개의 유전자들은 모두 10개 내외의 인트론을 가지고 있음을 알 수 있었다 (Table 2). 또한 Figure 3의 단백질 서열에 의한 phyrogenic tree에서 분류된 5개의 고유한 소그룹 (I: KATs group, II: AKTs group, III:

KC1 group, IV: SKOR, GORK, V: AKT2 group)에서 각 그룹별로 거의 동일한 인트론 위치를 가짐을 확인할 수 있었다.

## 전 망

돌연변이체의 연구나 reverse genetics 기법을 통하여 다양한 K<sup>+</sup> channel들의 생물학적 기능이 밝혀지고 patch clamp 방법 등을 통하여 전기 생리학적, 생화학적 특성들이 규명되었으며, 최근에는 다양한 활성 조절 단백질들이 밝혀지고 이들과의 상호 작용 network가 규명되었으나 주로 애기장대에서 연구가 수행되어 왔다. K<sup>+</sup> 이온은 공변 세포의 개폐에 중요한 삼투조절제 일뿐만 아니라 주요 식물의 성장과 발달에 필수적이기 때문에 이와 관련된 채널 단백질의 연구가 주요 작물인 벼에서도 활발히 수행되어야 할 필요가 있다. 특히 공변 세포에서의 K<sup>+</sup> 이온의



influx와 efflux는 환경스트레스와 매우 밀접한 연관이 있기 때문에 이와 관련된 벼의 shaker like potassium 채널 단백질의 연구가 보다 중점적으로 이루어진다면 공변 세포 공학 (guard cell engineering)을 이용한 건조 저항성이나 염분 저항성과 같은 환경스트레스 저항성 작물 개발에 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 여겨진다. 앞으로 벼의 shaker like potassium 채널 단백질의 동정 및 특성 확인뿐만 아니라 상호작용하는 다양한 조절 단백질과 새로운 상호작용 단백질 파트너들 사이의 조절 기작 연구가 중요한 연구 주제가 될 것으로 사료된다.

## 사 사

본 논문은 농촌진흥청 국립농업과학원 아젠다 (PJ0066 472010) 과제와 2010년도 농촌진흥청 국립농업과학원의 박사후 연수과정 지원사업에 의해 이루어진 것임.

## 인용문헌

- Anderson JA, Huprikar SS, Kochian LV, Lucas WJ, Gaber RF (1992) Functional expression of a probable *Arabidopsis thaliana* potassium channel in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:3736-3740
- Armstrong F, Leung J, Grabov A, Brearley J, Giraudat J, Blatt MR (1995) Sensitivity to abscisic acid of guard-cell  $K^+$  channels is suppressed by *abi1-1*, a mutant *Arabidopsis* gene encoding a putative protein phosphatase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:9520-9524
- Bannister JP, Chanda B, Bezanilla F, Papazian DM (2005) Optical detection of rate-determining ion-modulated conformational changes of the ether-a-go-go  $K^+$  channel voltage sensor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:18718-18723
- Bei Q, Luan S (1998) Functional expression and characterization of a plant  $K^+$  channel gene in a plant cell model. *Plant J* 13:857-865
- Boscari A, Clement M, Volkov V, Gollmack D, Hybiak J, Miller AJ, Amtmann A, Fricke W (2009) Potassium channels in barley: cloning, functional characterization and expression analyses in relation to leaf growth and development. *Plant Cell Environ* 32:1761-1777
- Buchsenschutz K, Marten I, Becker D, Philippar K, Ache P, Hedrich R (2005) Differential expression of  $K^+$  channels between guard cells and subsidiary cells within the maize stomatal complex. *Planta* 222:968-976
- Cheong YH, Pandey GK, Grant JJ, Batistic O, Li L, Kim BG, Lee SC, Kudla J, Luan S (2007) Two calcineurin B-like calcium sensors, interacting with protein kinase CIPK23, regulate leaf transpiration and root potassium uptake in *Arabidopsis*. *Plant J* 52:223-239
- Cherel I, Michard E, Platet N, Mouline K, Alcon C, Sentenac H, Thibaud JB (2002) Physical and functional interaction of the *Arabidopsis*  $K^+$  channel AKT2 and phosphatase AtPP2CA. *Plant Cell* 14:1133-1146
- Downey P, Szabo I, Ivashikina N, Negro A, Guzzo F, Ache P, Hedrich R, Terzi M, Schiavo FL (2000) KDC1, a novel carrot root hair  $K^+$  channel. Cloning, characterization, and expression in mammalian cells. *J Biol Chem* 275:39420-39426
- Fairley-Grenot K, Assmann SM (1991) Evidence for G-Protein Regulation of Inward  $K^+$  Channel Current in Guard Cells of Fava Bean. *Plant Cell* 3:1037-1044
- Formentin E, Varotto S, Costa A, Downey P, Bregante M, Naso A, Picco C, Gambale F, Lo Schiavo F (2004) DKT1, a novel  $K^+$  channel from carrot, forms functional heteromeric channels with KDC1. *FEBS Lett* 573:61-67
- Fuchs I, Stolzle S, Ivashikina N, Hedrich R (2005) Rice  $K^+$  uptake channel OsAKT1 is sensitive to salt stress. *Planta* 221:212-221
- Gambale F, Uozumi N (2006) Properties of shaker-type potassium channels in higher plants. *J Membr Biol* 210:1-19
- Gaymard F, Pilot G, Lacombe B, Bouchez D, Bruneau D, Boucherez J, Michaux-Ferriere N, Thibaud JB, Sentenac H (1998) Identification and disruption of a plant shaker-like outward channel involved in  $K^+$  release into the xylem sap. *Cell* 94:647-655
- Hartje S, Zimmermann S, Klonus D, Mueller-Roeber B (2000) Functional characterisation of LKT1, a  $K^+$  uptake channel from tomato root hairs, and comparison with the closely related potato inwardly rectifying  $K^+$  channel SKT1 after expression in *Xenopus* oocytes. *Planta* 210:723-731
- Heginbotham L, Abramson T, MacKinnon R (1992) A functional connection between the pores of distantly related ion channels as revealed by mutant  $K^+$  channels. *Science* 258:1152-1155.
- Hille B (1986) Ionic channels: molecular pores of excitable membranes. *Harvey Lect* 82:47-69
- Hosy E, Duby G, Very AA, Costa A, Sentenac H, Thibaud JB (2005) A procedure for localisation and electrophysiological characterisation of ion channels heterologously expressed in a plant context. *Plant Methods* 1:14
- Hurst AC, Meckel T, Tayefeh S, Thiel G, Homann U (2004) Trafficking of the plant potassium inward rectifier KAT1 in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *Plant J* 37:391-397
- Hwang JU, Suh S, Yi H, Kim J, Lee Y (1997) Actin Filaments Modulate Both Stomatal Opening and Inward  $K^+$ -Channel Activities in Guard Cells of *Vicia faba* L. *Plant Physiol* 115:335-342
- Kwak JM, Murata Y, Baizabal-Aguirre VM, Merrill J, Wang M, Kemper A, Hawke SD, Tallman G, Schroeder JI (2001) Dominant negative guard cell  $K^+$  channel mutants reduce inward-rectifying  $K^+$  currents and light-induced stomatal opening in *arabidopsis*. *Plant Physiol* 127:473-485
- Lebaudy A, Very AA, Sentenac H (2007)  $K^+$  channel activity in plants: genes, regulations and functions. *FEBS Lett* 581: 2357-2366
- Lee SC, Lan WZ, Kim BG, Li L, Cheong YH, Pandey GK, Lu G, Buchanan BB, Luan S (2007) A protein phosphorylation/dephosphorylation network regulates a plant potassium

- channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:15959-15964
- Leyman B, Geelen D, Quintero FJ, Blatt MR (1999) A tobacco syntaxin with a role in hormonal control of guard cell ion channels. *Science* 283:537-540
- Li L, Kim BG, Cheong YH, Pandey GK, Luan S (2006) A  $\text{Ca}^{2+}$  signaling pathway regulates a  $\text{K}^{+}$  channel for low-K response in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:12625-12630
- Li W, Assmann SM (1993) Characterization of a G-protein-regulated outward  $\text{K}^{+}$  current in mesophyll cells of vicia faba L. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:262-266
- Li W, Luan S, Schreiber SL, Assmann SM (1994) Evidence for protein phosphatase 1 and 2A regulation of  $\text{K}^{+}$  channels in two types of leaf cells. *Plant Physiol* 106:963-970
- Luan S, Li W, Rusnak F, Assmann SM, Schreiber SL (1993) Immunosuppressants implicate protein phosphatase regulation of  $\text{K}^{+}$  channels in guard cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:2202-2206
- Maser P, Thomine S, Schroeder JI, Ward JM, Hirschi K, Sze H, Talke IN, Amtmann A, Maathuis FJ, Sanders D, Harper JF, Tchieu J, Gribskov M, Persans MW, Salt DE, Kim SA, Gueriot ML (2001) Phylogenetic relationships within cation transporter families of Arabidopsis. *Plant Physiol* 126:1646-1667
- Meckel T, Hurst AC, Thiel G, Homann U (2004) Endocytosis against high turgor: intact guard cells of *Vicia faba* constitutively endocytose fluorescently labelled plasma membrane and GFP-tagged K-channel KAT1. *Plant J* 39:182-193
- Michard E, Dreyer I, Lacombe B, Sentenac H, Thibaud JB (2005) Inward rectification of the AKT2 channel abolished by voltage-dependent phosphorylation. *Plant J* 44:783-797
- Mikosch M, Hurst AC, Hertel B, Homann U (2006) Diacidic motif is required for efficient transport of the  $\text{K}^{+}$  channel KAT1 to the plasma membrane. *Plant Physiol* 142:923-930
- Obata T, Kitamoto HK, Nakamura A, Fukuda A, Tanaka Y (2007) Rice shaker potassium channel OsKAT1 confers tolerance to salinity stress on yeast and rice cells. *Plant Physiol* 144:1978-1985
- Philippart K, Buchsenschutz K, Abshagen M, Fuchs I, Geiger D, Lacombe B, Hedrich R (2003) The  $\text{K}^{+}$  channel KZM1 mediates potassium uptake into the phloem and guard cells of the C4 grass *Zea mays*. *J Biol Chem* 278:16973-16981
- Reintanz B, Szyroki A, Ivashikina N, Ache P, Godde M, Becker D, Palme K, Hedrich R (2002) AtKC1, a silent Arabidopsis potassium channel alpha-subunit modulates root hair  $\text{K}^{+}$  influx. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:4079-4084
- Saalbach G, Schwerdel M, Natura G, Buschmann P, Christov V, Dahse I (1997) Over-expression of plant 14-3-3 proteins in tobacco: enhancement of the plasmalemma  $\text{K}^{+}$  conductance of mesophyll cells. *FEBS Lett* 413:294-298
- Sato A, Sato Y, Fukao Y, Fujiwara M, Umezawa T, Shinozaki K, Hibi T, Taniguchi M, Miyake H, Goto DB, Uozumi N (2009) Threonine at position 306 of the KAT1 potassium channel is essential for channel activity and is a target site for ABA-activated SnRK2/OST1/SnRK2.6 protein kinase. *Biochem J* 424:439-448
- Schachtman DP, Schroeder JI, Lucas WJ, Anderson JA, Gaber RF (1992) Expression of an inward-rectifying potassium channel by the Arabidopsis KAT1 cDNA. *Science* 258:1654-1658
- Sottocornola B, Visconti S, Orsi S, Gazzarrini S, Giacometti S, Olivari C, Camoni L, Aducci P, Marra M, Abenavoli A, Thiel G, Moroni A (2006) The potassium channel KAT1 is activated by plant and animal 14-3-3 proteins. *J Biol Chem* 281:35735-35741
- Spalding EP, Goldsmith M (1993) Activation of  $\text{K}^{+}$  Channels in the Plasma Membrane of Arabidopsis by ATP Produced Photosynthetically. *Plant Cell* 5:477-484
- Sutter JU, Campanoni P, Tyrrell M, Blatt MR (2006) Selective mobility and sensitivity to SNAREs is exhibited by the Arabidopsis KAT1  $\text{K}^{+}$  channel at the plasma membrane. *Plant Cell* 18:935-954
- Sutter JU, Sieben C, Hartel A, Eisenach C, Thiel G, Blatt MR (2007) Abscisic acid triggers the endocytosis of the Arabidopsis KAT1  $\text{K}^{+}$  channel and its recycling to the plasma membrane. *Curr Biol* 17:1396-1402
- Tang H, Vasconcelos AC, Berkowitz GA (1996) Physical association of KAB1 with plant  $\text{K}^{+}$  channel alpha subunits. *Plant Cell* 8:1545-1553
- Tempel BL, Papazian DM, Schwarz TL, Jan YN, Jan LY (1987) Sequence of a probable potassium channel component encoded at Shaker locus of *Drosophila*. *Science* 237:770-775
- Very AA, Sentenac H (2003) Molecular mechanisms and regulation of  $\text{K}^{+}$  transport in higher plants. *Annu Rev Plant Biol* 54:575-603
- Wang XQ, Ullah H, Jones AM, Assmann SM (2001) G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in Arabidopsis guard cells. *Science* 292:2070-2072
- Wegner LH, De Boer AH (1997) Properties of Two Outward-Rectifying Channels in Root Xylem Parenchyma Cells Suggest a Role in  $\text{K}^{+}$  Homeostasis and Long-Distance Signaling. *Plant Physiol* 115:1707-1719
- Wu WH, Assmann SM (1995) Is ATP Required for  $\text{K}^{+}$  Channel Activation in *Vicia* Guard Cells? *Plant Physiol* 107:101-109
- Zhang X, Ma J, Berkowitz GA (1999) Evaluation of functional interaction between  $\text{K}^{+}$  channel alpha- and beta-subunits and putative inactivation gating by Co-expression in *Xenopus laevis* oocytes. *Plant Physiol* 121:995-1002
- Zimmermann S, Talke I, Ehrhardt T, Nast G, Müller-Rober B (1998) Characterization of SKT1, an inwardly rectifying potassium channel from potato, by heterologous expression in insect cells. *Plant Physiol* 116:879-890