

## 당근 현탁배양 세포에서 $\text{Ca}^{2+}$ 과 Polyamines가 Cell Wall 합성에 관여하는 $\beta$ -Glucan Synthetase II 활성에 미치는 영향

表炳植·康榮燾  
(延世大學校 生物學科)

### Effect of $\text{Ca}^{2+}$ and Polyamines on the Activity of $\beta$ -Glucan Synthetase II Related to Cell Wall Synthesis in Carrot Suspension Cultured Cells

Pyo, Byoung Sik and Young Hee Kang  
(Department of Biology, Yonsei University, Seoul)

#### ABSTRACT

The effect of  $\text{Ca}^{2+}$  and polyamines on the activity of  $\beta$ -glucan synthetase II (GSII) related to cell wall synthesis was studied in carrot suspension cultured cells.

The activity of GS II is four times higher than that of  $\beta$ -glucan synthetase I in carrot suspension cultured cells and *in vitro* experiment, the activity of GSII was increased in response to increase in concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  and polyamines. When carrot suspension cultured cells were incubated together with  $\text{Ca}^{2+}$  and polyamines, the GSII activity was high at 0.1mM of  $\text{Ca}^{2+}$  and 1 mM of putrescine.

Also, polycationic poly-L-lysine and poly-L-ornithine increased about 50% the GSII activity than that of the control, respectively. These results may imply that  $\text{Ca}^{2+}$  and polyamines were related to the enzyme activity as a polycationic nature. In addition, verapamil as the calcium channel blocker and flunarizine as an antagonist of calcium mechanism in cytoplasm decreased GSII activity remarkably,  $\text{Ca}^{2+}$  and calmodulin stimulated GSII activity as  $\text{Ca}^{2+}$  of free ion rather than  $\text{Ca}^{2+}$  calmodulin complex.

The effect of 2,4-D on the GSII activity in culture medium is shown to be low at 0.1mg per liter and GSII activity increased about 30% more than that of the 0.1mg/l at the range of 0.3-1.0mg per liter.

Cummulative results suggest that  $\text{Ca}^{2+}$  and polyamines stimulate the cell wall synthesis by means of the enhancement of GSII activity responsible for synthesizing the cell wall components.

#### 서 론

$\beta$ -glucan synthetase (GS)는 세포벽 구성 성분중 cellulose와 hemicellulose 및 callose를 합성하는데 관여한다(Ray *et al.*, 1969; Bonner and Varner, 1976). 이 세포벽 합성에 관여하는 GS는 존재부위와 합성되는 물질에 따라  $\beta$ -glucan synthetase I(GSI)과  $\beta$ -glucan synthetase II(GS II)로 나누어지며, GSI은 소포체, 골지체 및 coated vesicle 등에 존재하고  $\beta$ -1,4-glucan의 cellulose 합성에 관여한다. GS II (EC 2.4.1.34)는 원형질막에 존재하며  $\beta$ -1,3-glucan인 cellulose

와 callose 합성에 관여하고 (Cerenius and Söderh  el, 1984; Lutteneger and Nevins, 1985), 세포벽의 cellulose 구성 성분의 95% 이상을 차지하는 glucan을 합성한다 (Van der Woude *et al.*, 1974). 특히 세포벽내에 축적되는 callose의 생성은 세포벽 발달과정의 특징이며 세포나 조직의 repair mechanism에 관여하기도 한다 (Kauss and Jeblick, 1986).

식물에 있어서  $Ca^{2+}$ 은 굴지성, 세포신장, 세포분열, 원형질유동, 노화, 탈리등에 관계하며 (Veluthambi and Poovaiah, 1984a), 식물체의 구조와 생리, 생화학적으로 중요한 역할을 한다 (Hepler and Wayne, 1985). 최근에는  $Ca^{2+}$ 이 second messenger 또는 signal substance로서 작용하며 (Veluthambi and Poovaiah, 1984b),  $Ca^{2+}$ 에 의해 'stimulus-response coupling' 효과를 일으켜 target enzyme을 조절한다는 것이다 (Kauss, 1987). 이러한 작용은  $Ca^{2+}$ 과 calmodulin이 복합체를 이루어 효소활성에 영향을 미쳐 세포대사를 조절하는 것으로서 protein kinase와 oxidoreductase의 활성 및 인산화 등이 그 예이다 (Marm  , 1982; Lukas *et al.*, 1984). 그러나 반드시 calmodulin과 복합체를 이루지 않고도 효소계에 작용하는 것으로 최근에 보고 되고 있다 (Kauss, 1987). 또한  $Ca^{2+}$ 은 calcium pectic acid의 염으로서 세포벽 구조에 영향을 주며 (Rasmussen, 1983; Stoddart *et al.*, 1967), 특히 pectin 화합물의 carboxyl group과 결합하며 세포의 강직성을 나타내게 한다 (Levine and Dalgarno, 1983).

Polyamine은 식물생장조절자로서 단백질과 핵산의 합성 및 mitotic activity를 증가시켜 주며 세포분열과 성장에 중요한 역할을 한다 (Palavan and Galston, 1982). 이러한 polyamine은 isoleucyl-tRNA synthetase (Igarashi; *et al.*, 1978), 6-phosphogluconate, glucose-6-phosphate dehydrogenase (Mita and Yasumazu, 1980), RNase (Altman, 1982) 및 단백질 인산화에 관계하는 protein kinase의 활성을 증가시킨다 (delta Fuente, 1984; Veluthambi and Poovaiah 1984b).

따라서 본 연구는 당근세포의 현탁배양시 polyamine과  $Ca^{2+}$ 이 세포벽 합성에 관여하는 GS II의 활성에 어떠한 특성을 가지고 작용하는지를 알아보기 위해 여러 다가양이온을 사용해서 그 효과를 알아 보았으며, 또한  $Ca^{2+}$ 이 free ion 내지는 calmodulin과 복합체를 이루어서 작용하는지의 여부와  $Ca^{2+}$ 의 channel blocker와 antagonist를 사용해서  $Ca^{2+}$ 의 세포벽 합성에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**재료.** 당근 (*Daucus carota* L.) 뿌리로 부터 유도한 callus를 B5현탁배양배지 (Dodds and Roberts, 1982)에서 현탁배양(120rpm/min)하며 14일 마다 계대배양한 후 세포들의 분열과 생장이 가장 활발한 10일째된 세포들을 모아서 실험재료로 사용하였다

**실험구의 설정.** *In vitro* 실험으로 당근 현탁배양세포에서 추출한 조효소에  $Ca^{2+}$ 과 polyamine을 0.1mM~10mM 범위로 각각 처리하였다. 또한 생체내 실험으로  $Ca^{2+}$ 과 polyamine을 10mM~1mM 처리해서 4시간 동안 30rpm/min으로 흔들어 주면서 배양시킨 다음 효소활성도를 측정하였으며, 다가양이온인 poly-L-lysine과 poly-L-ornithine을 생체량세포 1g당 1mg씩 처리하여  $Ca^{2+}$ 이 다가양이온적 특성으로서 GS II에 대한 작용여부를 알아보았다. 또한  $Ca^{2+}$ 의 channel blocker와 antagonist 그리고 chelating agent를 처리해서 간접적으로  $Ca^{2+}$ 의 효과를 보았으며,  $Ca^{2+}$ -calmodulin 복합체가 효소활성에 미치는 영향을 보기 위해 calmodulin을 5, 10unit씩 각각 처리하였다 (Leshem *et al.*, 1984; Raghothama *et al.*, 1985).

**GS의 추출과 활성도 측정.** Ray 등(1977)과 Cerenius와 Söderhäll(1984)의 방법을 일부 수정하여 효소추출과 활성도를 측정하였다. 시험관내 실험은 현탁배양한 세포를 증류수로 세척한 다음 여과지로 수분을 제거시키고 같은 무게의 마쇄액과 혼합하여 막사발로 마쇄하였다. 마쇄액은 1M sucrose, 4mM  $Na_2$  EDTA, 1mM DTT, 25mM GTP, 58mM  $MgCl_2$  등이 포함된 0.1M Tris완충액 (pH8.0)을 사용하였다. 마쇄된 용액을 나일론 천으로 걸러서 여과액을 6,800×g에서 15분간 원심분리하여 상정액을 다시 40,000×g에서 45분간 원심분리해서 얼을 침전물을 Tris완충액에 현탁하여 조효소로 사용하였다. 생체내 실험은 각각의 처리물질을 첨가한 β5배지에서 4시간 동안 배양시킨 다음 상기와 같은 방법으로 효소를 추출하며 효소반응에 사용하였다.

효소반응은 200ml의 효소추출액과 800ml의 Tris완충액 (0.02 μCi의 uridine diphospho-D-[U- $^{14}C$ ] glucose, specific activity 223mCi/mmol, ICN,  $Ca^{2+}$ , polyamines)을 27°C에서 2시간 반응시켰다. 효소반응 중지를 위해 1ml의 10% trichloroacetic acid를 첨가한 후 잘 혼합하였다. 이것을 Whatman GF/C glass filter로 여과한 후 반응하지 않은 기질을 세척해 내기 위해서 10% trichloroacetic acid 용액으로 3ml씩 세 번, 96% ethanol로 3ml씩 세 번 세척하였다. 이 glass filter를 말린 후 15ml의 scintillation cocktail에 넣고 1시간 이상 방치한 후 scintillation counter(PACKARD, TRI-CARB 4530)로 방사능량을 측정하였다.

**단백질 정량.** 단백질은 Lowry등(1951)의 방법을 이용하여 비색정량하였다.

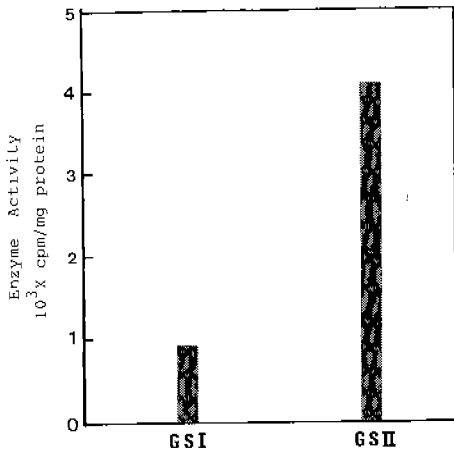
## 결과 및 고찰

Polyamine과  $Ca^{2+}$ 은 당근뿌리에서 추출한 GS II의 활성을 촉진시켰고, 원형질체 배양시 세포벽이 재생됨에 따라 효소의 활성이 증가됨을 보고하였다(Cho *et al.*, 1985; Lee *et al.*, 1987). 따라서 세포벽 합성에 관여하는 효소의 활성을 보기 위해 당근배양세포를 현탁배양하여 polyamine과  $Ca^{2+}$ 이 GS II의 활성에 미치는 영향과 poly-L-lysine과 poly-L-ornithine이 어떠한 양상으로 효소활성에 작용하는지를 규명하고자 하였다.

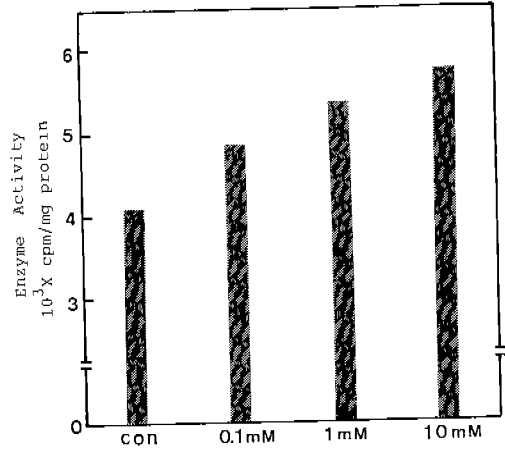
당근현탁배양세포에서 GS I 과 GS II의 활성도를 조사였는데 (Fig.1) GS II의 활성이 GS I보다 4배 정도 더 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 당근뿌리에서 보다는 GS I 과 GS II의 활성의 차이가 적지만(Lee *et al.*, 1987) 비슷한 양상을 보였으며 본 실험에서는 이처럼 활성이 높은 GS II에 대한  $Ca^{2+}$ 과 polyamine의 영향을 보았다.

*In vitro* 실험으로 당근 현탁배양세포에서 추출해낸 조효소에  $Ca^{2+}$ 를 처리하여 GS II의 활성도를 조사하였다(Fig.2),  $Ca^{2+}$ 을 0.1mM, 1mM, 10mM 처리했을 때 대조구보다 각각 20, 30, 40%씩 활성을 증가시켰다. 한편 β5기본배지에  $Ca^{2+}$ 을 0.01mM, 0.1mM, 1mM 각각 처리해서 4시간 동안 배양시킨 다음 효소활성을 측정할 결과 0.1mM에서 대조구보다 2배정도 효소활성을 촉진시켰으며 0.01mM과 1mM에서는 각각 70, 90%정도 증가시켰다(Fig.3). 이와같은 결과는 *in vitro* 실험에서 보다 훨씬 높은 활성을 보였는데 이는 효소의 인산화를 통한 covalent modification을 일으켜 효소활성을 촉진시키는 것으로 사료된다(Kauss, 1987; Paliyath, 1988).

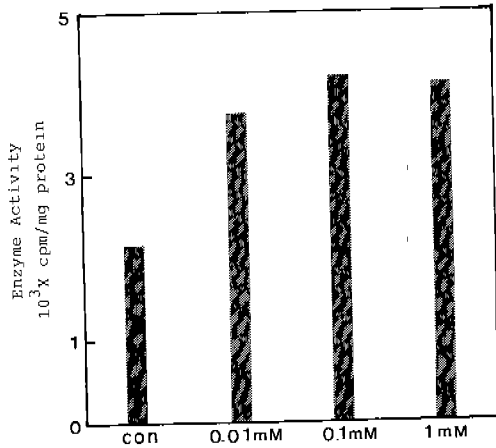
*In vitro* 실험에서 polyamine이 GS II 활성에 미치는 영향은 농도가 높아감에 따라(0.1mM~10mM) 촉진시켰으며 이 중에서 spermine이 가장 효과가 높았다(Fig.4). Spermine처리구의 경우 0.1mM과 1mM에서 대조구보다 각각 3배, 4배씩, spermidine은 2배, 3배씩 효소활성을 증



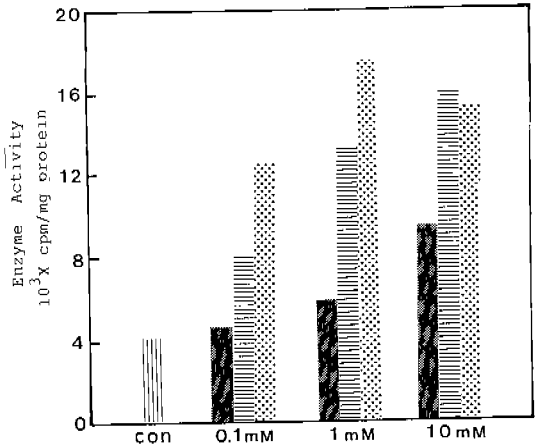
**Fig. 1.** The comparison of the GSI ( $\beta$  - glucan synthetase I) and GSII ( $\beta$  - glucan synthetase II) activity on carrot suspension cultured cells.



**Fig. 2.** Effect of Ca<sup>2+</sup> concentrations on GSII activity of carrot suspension cultured cells in *in vitro*.



**Fig. 3.** Effect of Ca<sup>2+</sup> on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr at 27°C.



**Fig. 4.** Effect of putrescine, spermidine and spermine on GSII activity of carrot suspension cultured cells in *in vitro*.

■ ; putrescine, ▨ ; spermidine ⊙ ; spermine

가시켰다. 그러나 putrescine은 10mM에서 만이 2배정도 증가시켰을 뿐이다. *In vitro* 실험에서 이러한 결과는 Ca<sup>2+</sup>의 효소활성에 대한 효과보다 훨씬 높았는데 이는 polyamine이 양이온적 특성으로서 효소활성에 영향을 미칠뿐만 아니라 polyamine이 GS II의 기질친화도를 증가시킴으로서 (Kauss, 1987) 활성을 촉진시키는 것으로 사료된다.

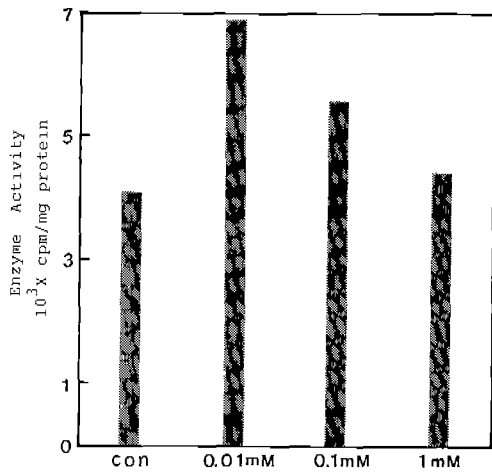


Fig. 5. Effect of putrescine on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr at 27°C.

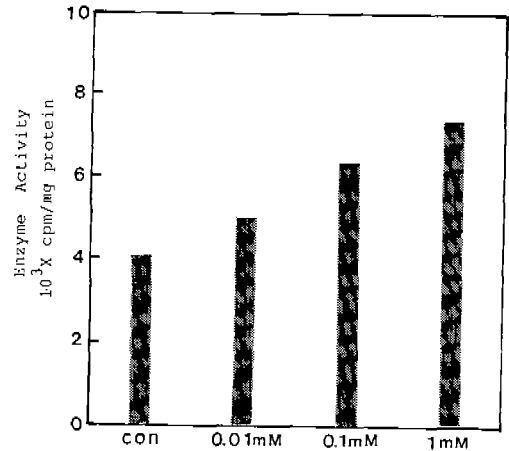


Fig. 6. Effect of spermidine on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr at 27°C.

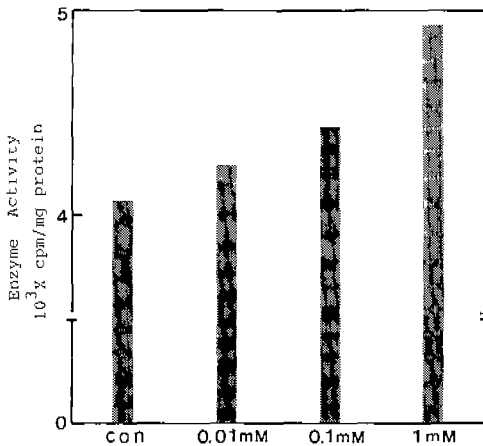


Fig. 7. Effect of spermine on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr at 27°C.

한편 B5기본배양매지에 polyamine을 0.01mM~1mM을 각각 처리해서 4시간 동안 배양시킨 다음 효소활성도를 측정 한 결과 0.01mM, 0.01mM, 1mM을 처리한 putrescine 실험구에서는 각각 30, 50, 80% 정도씩 효소의 활성을 측정진시켰으며 spermidine의 경우는 각각 70, 40, 20% 정도씩 증가시켰다. 그리고 spermine은 1mM 처리구에서만 대조구보다 20% 정도 효소활성을 증가시켰을 뿐 다른 농도에서는 별 유의성이 없었다(Figs. 5,6,7). 이는 *in vitro*(Fig.4)에서 보다 *in vivo*에서 효소활성이 polyamine에 의해 훨씬 적게 증가시켰으며 1mM의  $Ca^{2+}$ 과 putrescine 처리구에서 효소활성의 촉진율이 거의 유사하게 나타났다. 따라서  $Ca^{2+}$ 과 polyamine, 특히 putrescine이 생체내에서 GSII의 활성을 촉진시키는 현상은 Kauss와 Jeblick(1986)의 결과와 일치하였으며,  $Ca^{2+}$  처리구에서와 마찬가지로 polyamine이 다가양이온적 특성으로서 GSII의 활성을 촉진시키는 것으로 사료된다.

**Table 1.** Effect of poly-L-lysine and poly-L-ornithine on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr in B5 medium. [ $^{14}$ C]-UDP glucose was used as a substrate and [ $^{14}$ C] glucan formed was measured. Poly-L-lysine and poly-L-ornithine were treated 1mg per gram cell fresh weight

Addition	GSII activity(cpm/mg protcin)	
	cpm	% control
None	4,080	100
Poly-L-Lysine(M. W., 25,000)	6,208	152
Poly-L-Ornithine(M. W., 25,000)	5,785	142

이렇게  $Ca^{2+}$ 과 polyamine이 다가양이온적 특성으로서 효소활성에 작용하는지를 알아보기 위해 다가양이온인 poly-L-lysine과 poly-L-ornithine을 사용해서 GS II 활성의 변화를 알아 보았다(Table 1). B5기본배양배지에 분자량이 25,000인 poly-L-lysine과 poly-L-ornithine을 생체량 세포 1g당 1mg(12  $\mu$ M)을 처리한 결과 대조구보다 40% 이상의 효소활성을 촉진시켰다. 이는  $\beta$ -1,4-glucan인 callose의 합성을 이 두 물질이 촉진시킨다는 보고(Köhle *et al.*, 1984,1985)와 비슷한 결과를 나타냈다. 이러한 현상은 다가양이온이 원형질막의 혼란을 유발시켜 세포밖으로의 전해질의 유출을 일으키며 이로인해 세포질내의  $Ca^{2+}$ 농도를 증가시켜서 증가된  $Ca^{2+}$ 이 GS II에 직접 작용해서 효소활성을 촉진시킨다는 보고가 있으며(Kauss and Jeblick, 1986), 또 다른 가능성은 poly-L-lysine과 poly-L-ornithine이  $Ca^{2+}$ -dependent protein kinase를 활성화시킴으로서(Polya and Micucci, 1985) 간접적으로 GS II 활성에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 이는 lysine과 ornithine을 처리했을시 GS II의 활성에 아무런 영향을 미치지 못했으며(Polya and Micucci, 1985), APT처리시 효소활성이 증가됨이 이를 뒷받침해 주고 있다(Palyath and Poovaiah, 1988).

당근탁배양배지에는 원래  $Ca^{2+}$ 의 농도가 1mM이 함유되어 있으므로  $Ca^{2+}$ 의 channel blocker로 알려진 verapamil과 diltiazem(Saunders and Hepler, 1982; Marme, 1986)과 chelating agent인 EGTA를 처리해서 GS II의 활성을 조사하였다(Table 2). 0.1mM과 1mM의 verapamil과 100  $\mu$ M의 flunarizine을 처리했을 때는 약 40% 정도의 효소활성을 억제시켰는데 diltiazem과 EGTA는 약간의 억제를 보였다. 이는 현탁배양시  $Ca^{2+}$ 이 GS II의 활성을 증가시키기 때문이라 사료된다.

이러한  $Ca^{2+}$ 이 free ion으로 작용하는지 또는 calmodulin과 복합체를 이루어서 영향을 미치는지를 알아보기 위해서 1mM의  $Ca^{2+}$ 이 함유된 B5 기본배지에 calmodulin을 5unit, 10unit(Leshem *et al.*, 1984; Raghothama *et al.*, 1985)를 각각 처리해서 4시간 동안 배양한 다음 효소활성도를 측정 한 결과 5unit를 처리한 실험구에서 대조구보다 16% 정도의 효소활성을 증가시켰다. 또한 calmodulin의 antagonist인 chlorpromazine(Raghothama *et al.*, 1985)을 100  $\mu$ M로 처리했을때 10%이내의 효소활성의 억제를 보였다(Table 3). 지금까지 calmodulin은 고등 식물중에서 완두, 녹두, 땅콩의 종자, 시금치의 잎, 옥수수등에서 분리추출 되었으며  $Ca^{2+}$ 과 calmodulin이 복합체를 이루어  $NAD^+$  kinase,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -ATPase protein kinase,  $NAD^+$  oxidoreductase에 작용하는 것으로 알려져 있는데(Marme, 1986; Cheung, 1983), 당근 현탁배양 세포에서 약간의 효소활성의 증가는 GS II에  $Ca^{2+}$ 과 calmodulin이 복합체를 이루어서 작용한

**Table 2.** Effect of diltiazem, verapamil, flunarizine and EGTA on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr in B5 medium. [<sup>14</sup>C]-UDP glucose was used as a substrate and [<sup>14</sup>C] glucan formed was measured

Treatment	GSII activity(cpm/mg protein)	
	cpm	%control
None	4,080	100
Diltiazem, 0.1 mM	3,245	80
1 mM	3,614	89
Verapamil, 0.1 mM	2,355	58
1 mM	2,655	65
Flunarizine, 10 μM	3,434	84
100 μM	2,398	59
EGTA, 10 μM	3,623	89
100 μM	3,501	86

**Table 3.** Effect of Ca<sup>2+</sup> - calmodulin complex and chlorpromazine on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr in B5 medium. [<sup>14</sup>C]-UDP glucose was used as a substrate and [<sup>14</sup>C] glucan formed was measured

Treatment	GSII activity(cp/mg protein)	
	cpm	%control
None	4,080	100
Calmodulin, 5unit	4,733	116
10 unit	4,170	102
Chlorpromazine, 10 μM	4,097	100.4
100 μM	3,713	91

**Table 4.** Effect of 2,4-D on GSII activity of carrot suspension cultured cells. The cells were incubated for 4hr in B5 medium. [<sup>14</sup>C]-UDP glucose was used as a substrate and [<sup>14</sup>C] glucan formed was measured

Addition (1L medium)	GSII activity(cpm/mg protein)	
	cpm	%control
2, 4-D, 0.1 mg	4,080	100
0.3 mg	5,221	128
0.5 mg	5,000	123
1.0 mg	5,284	130

다기 보다는 protein kinase와 같은 효소에 작용하여 GS II 의 인산화 과정을 통한 covalent modification을 일으켜 효소활성의 촉진을 초래한 것으로 사료된다. 결국 GS II 의 활성화에 Ca<sup>2+</sup>의 영향은 free ion으로서 작용하며 당근배양세포에서 calmodulin의 존재유무는 아직까지 밝혀져 있지 않다.

한편 B5기본배양배지에는 2,4-D의 처리 범위가 0.1mg/l~1mg/l로 되어 있다. 따라서 2,4-D의 농도 변화가 GS II의 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위해 배지 11당 0.1mg, 0.3mg, 0.5mg, 1.0mg을 각각 처리해서 배양한 결과 0.1mg 처리구보다 0.3, 0.5, 1.0mg 처리구에서 20~30%씩의 효소활성 증가를 가져왔다(Table 4). 이러한 2,4-D의 GS II활성의 촉진은 생체내 실험에서만 가능하는데 이는 2,4-D가 *microsome*으로부터  $Ca^{2+}$ 의 유출을 촉진시킴으로서 (Paliyath and Poovaiath, 1988) 세포질내의  $Ca^{2+}$ 농도가 증가하여 결국  $Ca^{2+}$ 이 효소활성에 작용하는 것으로 사료된다. 따라서 GS II 활성화에 가장 영향이 적은 0.1mg/l의 2,4-D를 사용하여 실험배양배지로 사용하였다.

이상에서 얻은 결과로 볼 때  $Ca^{2+}$ 과 Polyamine은 다가양이온적 특성으로서 GS II 활성을 촉진시키며 이러한 활성촉진 현상은 GS II의 covalent modification에 관여하는 인산화에 영향을 미침으로서 가능하며  $Ca^{2+}$ 은 free ion으로 효소활성을 촉진시킴으로서 세포벽 합성에 기여하리라 사료된다.

## 적 요

당근(*Daucus carota* L.) 현탁배양세포에서  $Ca^{2+}$ 과 polyamine이 세포벽 합성에 관여하는  $\beta$ -glucan synthetase II의 활성화에 미치는 영향을 조사하였다.

당근 현탁배양세포에서는  $\beta$ -glucan synthetase II (GS II)의 활성이  $\beta$ -glucan synthetase I (GS I)보다 4배 정도 더 높았으며 *in vitro* 실험에서  $Ca^{2+}$ 과 polyamine농도가 증가함에 따라 GS II의 활성을 증가시켰다. 당근 현탁배양세포에  $Ca^{2+}$ 과 polyamine을 처리하여 배양했을시 GS II의 활성은 0.1mM  $Ca^{2+}$ 과 1mM putrescine의 처리구에서 가장 높았다.

또한 다가양이온인 poly-L-lysine과 poly-L-ornithine은 각각 50% 정도의 GS II 활성을 촉진시켰는데 이는  $Ca^{2+}$ 과 polyamine이 다가양이온적 특성으로서 효소활성을 촉진시키는 것으로 사료된다.

한편  $Ca^{2+}$ 의 channel blocker로서 verapamil과  $Ca^{2+}$ 의 mechanism antagonist인 flunarizine은 GS II의 활성을 현저하게 저하시켰으며  $Ca^{2+}$ 과 calmodulin이 효소에 미치는 영향은  $Ca^{2+}$ -calmodulin 복합체로의 작용보다는  $Ca^{2+}$ 이 free ion으로 GS II의 활성을 촉진시키는 것으로 나타났다.

배양배지내의 2,4-D가 GS II의 활성화에 미치는 영향은 0.1mg/l에서 가장 낮았으며 0.3mg/l~1.0mg/l의 농도에서는 다같이 30% 정도 효소활성을 증가시켰다.

이상의 결과로 보아  $Ca^{2+}$ 과 polyamine은 세포벽 합성에 관여하는 GS II의 활성을 촉진시킴으로서 세포벽 형성을 증가시킨다고 사료된다.

## REFERENCES

- Altman, A. 1982. Retardation of redish leaf senescence by polyamines. *Physiol. Plant.* **54**: 189-193.
- Bonner, J. and J.E. Varner. 1976. *Plant biochemistry*. Academic Press. pp. 405-424.
- Cercnuius, L. and K. Söderh el. 1984. Isolation and properties of  $\beta$ -glucan synthetase from the aquatic fungus, *Aphanomyces astaci*. *Physiol. Plant.* **60**: 247-252.
- Cheung, W.Y. 1983. Calcium and cell function. Academic Press, New York, pp. 264-311
- Cho, Y.D., S.H. Lec, M.Y. Kim and H.M. Lee. 1985. Effect of polyamines on glucan synthetase activity. *Korean J. Bot.* **28**: 243-251.



- delta Fuente, R.K. 1984. Calcium in the polar secretion of indoleacetic acid. *Plant Physiol.* **76**: 342-346.
- Dods, J.E. and L.W. Roberts. 1982. Experiments in plant tissue culture. Cambridge university press. pp. 19-35.
- Hepler, P.K. and R.O. Wayne. 1985. Calcium and plant development. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **36**: 397-439.
- Igarashi, K., I.Sakamoto, N. Goto, K. Kashiwagi, R. Eomma and S. Hirose. 1978. Effect of polyamines on isoleucyl-tRNA formation by rat-liver isoleucyl-tRNA synthetase. *Eur. J. Biochem.* **82**: 301-307.
- Kaus, H. and W. Jeblick. 1986. Influence of free fatty acids, lysophosphatidylcholine, platelet-activating factor, acylcarnitine, and echinocandin B on 1,3-D-glucan synthase and callose synthesis. *Plant Physiol.* **80**: 7-13.
- Kauss, H. 1987. Some aspects of calcium-dependent regulation in plant metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **38**: 47-72.
- Kauss, H. and W. Jeblick. 1986. Synergistic activation of 1,3- $\beta$ -D-glucan synthase by  $\text{Ca}^{2+}$  and polyamines. *Plant Science* **43**: 103-107
- Köhle, H., D.H. Young and H. Kauss. 1984. Physiological changes in suspension-cultured soybean cells elicited by treatment with chitosan. *Plant Sci. Lett.* **33**: 221-230.
- Köhle, H., W. Jeblick, F. Poten, W. Blashek and H. Kauss. 1985. Chitosan elicited callose synthesis in soybean cells as a  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent process. *Plant Physiol.* **77**: 544-551.
- Lee, S.H., Y.H. Kang, B.S. Pyo, Y.D. Cho, M.W. Kim and J.S. Lee. 1987. Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  and polyamine on  $\beta$ -glucan synthetase activity in carrot root protoplast. *Korean J. Bot.* **30**(3): 173-179.
- Leshem, Y.Y., S. Sridhara and J.E. Thompson. 1984. Involvement of calcium and calmodulin in membrane deterioration during senescence of pea foliage. *Plant Physiol.* **75**: 329-335.
- Levin, B.A. and D.C. Dalgarno. 1983. The dynamic and function of calcium binding proteins. *Biochem. Biophys. Acta* **726**: 187-204.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Lukas, T.J., D.B. Inverson, M. Schleicher and D.M. Watterson 1984. Structural characterization of a higher plant calmodulin. *Plant Physiol.* **75**: 788-795.
- Luttenegger, G., and D.J. Nevins. 1985. Transient nature of a (1-3), (1-4)- $\beta$ -glucan in *Zea mays* coleoptile cell walls. *Plant Physiol.* **77**: 175-178.
- Marmé, D. 1982. The role of  $\text{Ca}^{2+}$  and calmodulin in plant. *What's New in Plant Physiol.* **13**: 37-40.
- Marmé, D. 1986. Calcium and cell physiology. Springer Verlag. pp. 105-139.
- Mita, D. and I. Yasumasu. 1980. Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in sea urchin eggs by palmitoyl CoA and reversal by polyamine. *Arch. Biochem. Biophys.* **201**: 322-329.
- Palavan, N. and A.W. Galston. 1982. Polyamine biosynthesis and titer during various developmental stages of *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant.* **55**: 438-444.
- Paliyath, G. and B.W. Poovaiah. 1988. Promotion of  $\beta$ -glucan synthase activity in corn microsomal membranes by calcium and protein phosphorylation. *Plant Cell Physiol.* **29**(1): 67-73.
- Polya, G.M. and V. Micucci. 1985. Interaction of wheat germ  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinases with calmodulin antagonists and polyamines. *Plant Physiol.* **79**: 966-972.