

## 수경재배 영양결핍토마토에서 브레시노스테로이드관련 신호전달 단백질 BAK1의 동정

신평균\* · 장안철 · 홍성창 · 이기상

농업과학기술원 식물영양과

Received November 14, 2007 / Accepted December 17, 2007

**Identification of Brassinosteroid-Related Protein, BAK1 from Nutrition Deficient Tomato Cultivated by Soilless Cultivation System.** Pyung-Gyun Shin\*, Ancheol Chang, Sung-Chang Hong and Ki-Sang Lee. *Plant Nutrition Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea* - Brassinolide insensitive associated receptor kinase 1(BAK1) is a critical component that play an important roles in signaling of brassinosteroid biosynthesis. Brassinosteroid-deficient and -insensitive mutants showed the characteristic of dwarf symptom. The nutrient deficient tomato showing stunt phenomenon was selected from soilless cultivation system using modified Sonneveld hydroponic solution. Twenty eight protein spots showing different expression levels compared to the control were isolated from extracts of stunted tomato leaves by 2D PAGE analyses. Significantly down-regulated 6 protein spots out of 28 protein spots were analyzed and sequenced by MALDI-TOF mass spectrometry. The protein spot having pI=4.5 and MW=24 kDa was identified as a signal protein, BAK1, which is directly related to brassinosteroid biosynthesis. In addition, five other protein spots were identified as BCK1, cystein proteinase, sulfutase, peroxidase and zinc finger factor respectively, and they were also signal proteins related to brassinosteroid biosynthesis. Furthermore, amplification of 500bp of BAK1 mRNA by RT-PCR using a primer set of peptide matched regions was inhibited compared to that of the wild type. The results suggested that the BAK1 might be regulated at the transcription level in response to nutrition applications.

**Key words :** Hydroponic, proteomics, BAK1, brassinosteroid, RT-PCR

## 서 론

브레시노스테로이드(Brassinosteroid : BR)는 식물계에서 가장 적은 양으로 발견된 성장촉진물질로서 지베렐린과 유사한 효과를 나타내는 식물성장 호르몬의 일종이며 식물성 스테롤을 전구체로 하여 생합성된다. 브라시노스테로이드 생합성이 결핍된 돌연변이는 매우 특징적인 왜성 표현형을 보이며 광신호전달에 관련된 광형태발생을 억제하는 신호라고 알려져 있다[21]. 1970년대에 이르러 유채의 화분으로부터 생리활성 스테로이드가 분리되었고, X-ray 회절법 등을 이용해 steroidal lacton이라는 구조가 동정되었으며 이것은 브레시노라이드(BL)로 명명되었다[6]. 1990년대에는 애기장대에서 BR의 생합성과정에서 결핍된 돌연변이체가 발견되었다. BR 결핍 돌연변이체는 잎이 아주 작고 위축되고 전체적으로 매우 왜소하였으며, 이 돌연변이체는 BR의 외부공급에 의해 정상상태로 회복되었다[15,23]. 이러한 돌연변이체의 분석을 통해 BR이 세포신장, 분열, 분화 등의 역할을 수행하고 있음을 보여주었다[2].

식물체의 성장에 있어서 BR의 생합성과정의 조절은 주위환경이나 각종 스트레스에 적응을 높여주는 역할을 담당하고 있다고 알려져 있다. 특히, 식물생장에 있어서 환경에 적응할 수

있는 능력에 대한 BR의 신호전달 경로가 어떻게 반응하느냐에 따른 해결점을 찾고 있다. 최근에는 분자·세포학적으로 BR의 생리학적 역할에 대한 이해가 증대되었으나 아직까지도 여러 난점이 많다[22]. 예를 들면, BR1-BAK1의 hetero-oligomer의 작용기작[11,28,29], 세포막과 핵에서의 존재위치에 대한 인식[1,26,27], 각종 스트레스(온도, 염, 병원균 등)에 내성을 갖게 하는 BR의 다면적 활성[10,12], 신호전달 경로에 따라 생산량의 조절 등의 문제를 해결하기 위해서는 BR에 대한 반응과 기능 그리고 발현패턴에 대한 체계적인 분석이 필요하다[1,4,13].

궁극적으로 BR는 식물체 크기를 조절할 수 있는 과정에 있어서 가장 중요한 역할을 담당하고 있지만 또 다른 호르몬과의 상호작용에 의해 조절되고 있음이 알려지고 있다[8,25]. 또한, BR는 식물체의 크기뿐만 아니라 세포형태, 조직의 발현에도 관여한다고 알려져 있다[21,30].

본 연구에서는 토마토의 수경재배를 통하여 영양결핍토마토를 유도하여 식물체의 크기와 생산량에 따른 그 내재적 변화 요인을 단백질체 분석을 통하여 변화양상을 살펴보고, 그 유전자 발현양상을 구명하였다.

## 재료 및 방법

### 토마토의 영양결핍 유기 및 식물체 분석

공시 품종은 우리나라에 많이 재배되고 있는 서광을 2일

\*Corresponding author

Tel : +82-31-290-0321, Fax : +82-31-290-0208

E-mail : pgshin@rda.go.kr

간 최아한 후 50공 프러그 포트에 파종하여 충분히 물을 뿌려주고 젖은 신문지로 덮어 상면이 건조하지 않도록 관리하여 싹을 틔운 뒤 본엽이 7~8매 전개되었을 때 뿌리에서 상토를 제거하고 시중에 시판되고 있는 간이양액재배시스템에 이식하였다. 영양결핍을 유도하기 위해 Sonneveld 용액을 약간 변형하여 사용한 배양액 농도는 다음과 같다. 물 40 l에 1 M에 해당하는  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  200 ml,  $\text{KNO}_3$  200 ml,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  80 ml,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  40 ml를 첨가하였고, Minor elements는 1 당 1.81 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.22 g  $\text{ZnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.08 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.09 g  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 를 혼합하여 40 ml를 첨가하였다.  $\text{Na}_2\text{FeEDTA}$ 는 1당 5 g를 녹여 0, 10, 20, 30, 50 ml를 각각 첨가하여 용존산소 폭기 하에 25일간 재배하였다. 영양결핍된 시료를 채취하여 70°C 건조기 내에서 2일간 건조하여 BallMill를 이용하여 분쇄한 후 200mesh 체에 통과된 분쇄물을 시료로 사용하였다. 식물체의 무기성분 함량분석은 토양 및 식물체분석법[19]에 의해 산가수분해액  $\text{HClO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$  용액으로 분해하여 Inductively coupled plasma spectrometer (ICP)로 측정하였다.

### 단백질체 분석

영양결핍된 시료를 채취하여 액화질소 하에 막자사발로 분쇄하였다. 분쇄된 재료 1 g를 Tris-HCl(pH 6.8)에 혼합하여 혼합액의 다섯 배 부피의 아세톤을 가한 다음 -20°C에서 2시간 침전시켜 원심 분리한 침전물에 전기영동용액(7M urea, 2M Thiourea, 4%(w/v) CHAPS, 1%(w/v) DTT, 2%(v/v) pharmalyte, 1 mM benzamidine)에 녹여 -20°C에 보관하며 이차원전기영동 시료로 사용하였다. 단백질의 농도측정은 Bradford[3]법으로 분석하였다. 일차적으로 등전점 전기영동(IEF)을 위하여 IPG strips를 전기영동용액(7M urea, 2M thiourea, 2% CHAPS, 1% DTT, 1% pharmalyte)에 상온에서 12-16시간 정도 reswelling하였고, Strip당 시료는 200 µg를 사용하여 Multiphore II system(Amersham Biosciences Co)을 이용하여 상온에서 IEF를 수행하였다. 이차적으로 전기영동을 수행하기 위해 IPG Strips을 1% DTT를 함유한 equilibration buffer(50 mM Tris-Cl, pH6.8, 6M urea, 2% SDS, 30% glycerol)로 10분간 incubation한 후 DALT 2D system(Amersham Biosciences Co)을 이용하였다. 완료된 이차원 gel은 Oakley 등[20]의 방법으로 silver 염색한 후 스캐닝하여 컴퓨터에 저장하였다. 스캐닝된 단백질 spots의 발현변화 확인을 위한 정량적인 분석은 PDQuest software(BioRad)를 이용하였고, 각 spot의 quantity는 대조군에 비해 두 배 이상의 발현변화를 보여주는 단백질 spots을 선정하였다. 단백질 spots은 Shevchenko 등[24]의 방법에 따라 modified porcine trypsin을 이용하여 작은 단편으로 효소적으로 분해하여  $\text{C}_{18}$ ZipTips(Millipore)을 사용하여 탈염 및 농축한 후 질량분석을 위해 target plate 위에 적하하였다. 질량분석기는 Ettan

MALDI-TOF(Amersham Biosciences Co)를 사용하여 Target plate 상에 적하되어 있는 단백질 단편들을 mass spectrum으로 분석한 후 ProFound 검색엔진[9]을 이용하여 단백질을 동정하였다.

### RT-PCR

RT-PCR를 위한 RNA 분리는 Dynabeads oligo(dT)<sub>25</sub>를 이용하여 다음과 같이 분리하였다. 200 µl Oligo(dT)<sub>25</sub>를 E-tube에 취한 다음 Dynal MPC에 부착시켜 부유액을 제거하고 200 µl lysis/binding buffer(100 mM Tris-HCl pH 7.5, 500 mM LiCl, 10 mM EDTA pH 8.0, 1% LiDS, 5 mM dithiothreitol)를 첨가한 다음 혼합하여 다시 MPC로 제거한다. 영양결핍된 토마토 잎을 액체질소 하에 막자사발로 분쇄한 0.1 g를 lysis/binding buffer 1 ml에 부유하고 1~2분간 철저히 혼합하고 1분간 원심분리한 상등액을 oligo(dT)<sub>25</sub>와 혼합한다. 혼합물을 상온에서 3~5분간 반응한 후 1 ml washing buffer A(10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM LiCl, 1 mM EDTA, 0.1% LiDS)로 두 번 씻고 1 ml washing buffer B(10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM LiCl, 1 mM EDTA)를 넣고 철저히 씻은 다음 마지막으로 0.5 ml wasing buffer B로 씻은 후 20 µl 10 mM Tris-HCl를 가하여 65~80°C에서 2분간 처리한 후, 즉각 MPC에 부착시켜 상등액을 취하여 RT-PCR를 위한 시료로 사용하였다. BAK1 primer는 애기장대 유전자(GenBank Accession No. NM\_119497)를 이용하여 BAK1-5 5'-CACCGCCTCCTA TCTCTCCT-3', BAK1-3 5'-AGGCAACACTTCCATTAGCC-3'를 디자인하여 증폭산물이 500bp가 되도록 만들었다. RT-PCR는 Accupower RT-PCR premix kit(Bioneer Co.)를 이용하여 Reverse transcriptase 반응은 45°C:60min, 72°C:10min, 94°C:4min으로 수행하였고, PCR 증폭은 35cycle(94°C:45sec, 50°C:30sec, 72°C:1min) 72°C:10min으로 증폭하였다.

## 결과 및 고찰

### 왜성 토마토의 유도

왜성토마토의 유도는 수정양액재배법에 의한 철결핍을 유기한 결과 Fig. 1과같이 철농도에 따라 유묘기에 토마토전체 뿐만 아니라 잎에서도 경시적으로 유기되었다. 유기된 토마토의 지상부 수량을 Fig. 1-B과 같이 철의 처리 농도가 3.75~5 mg/kg 사이에서 급격한 생장의 변화를 보여 주었고, Fig. 1-C에서는 식물체의 철 함량을 분석한 결과 수량과 마찬가지로 3.75~5 mg/kg에서 함량의 변화 폭이 컸다. 이것은 철의 처리농도 5 mg/kg이하에서 영양결핍(또는 왜성토마토)을 유도할 수 있음을 보여주고 있다.

영양결핍에 따른 왜성토마토의 내재적 변화인자의 발현양상 영양결핍에 따른 왜성토마토를 유기하여 단백질체 발현양

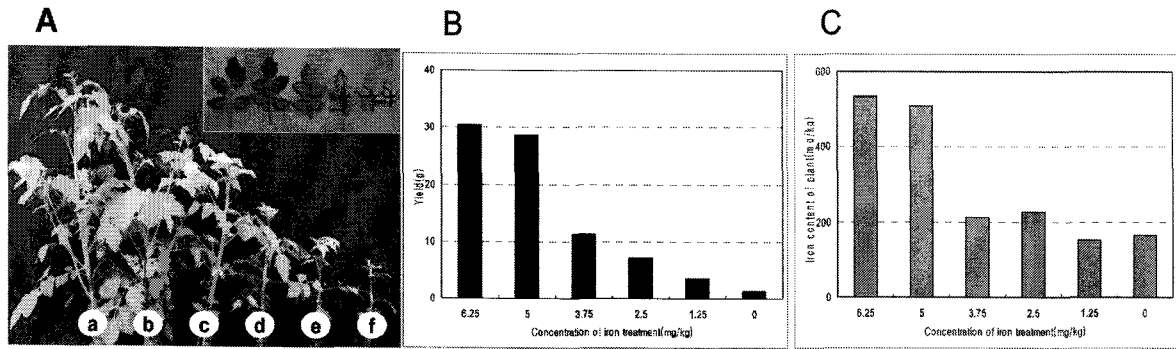


Fig. 1. Characteristics of tomatos seedling inhibited by nutrition deficiency under soilless cultivation. A: Morphology, B: Yield, C: Iron content of plant leaves by descending treatment of iron concentration with 6.25, 5, 3.75, 2.5, 1.25 and 0 mg/kg.

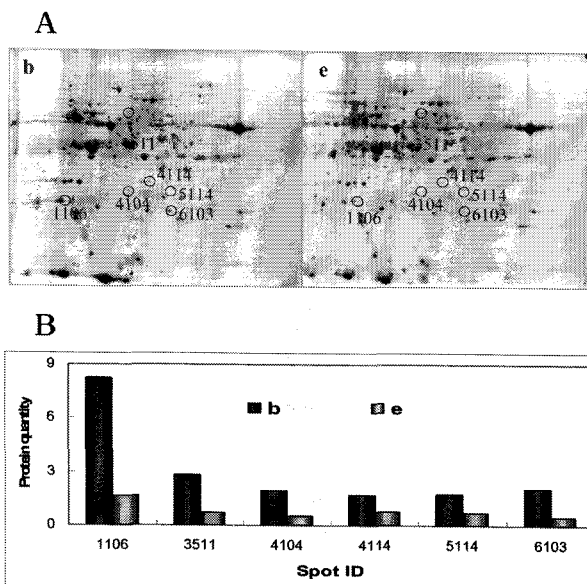


Fig. 2. 2-DE analysis and relative expression levels of down regulated protein spots induced by nutrition deficiency under soilless cultivation. A: 2-DE gels, B: Protein quantity. lane b was treated with 5 mg/kg of iron concentration and lane e was 2.5 mg/kg.

상을 분석하기 위해서 2차원 전기영동을 통하여 Fig. 2-A와 같이 분리하였다. 분리된 2차원 단백질체를 PDQuest 프로그램으로 이미지 분석을 통해 발현차를 보여주는 28개의 단백질 spots를 반복실험하여 분리하였다. 그 중에서 Fig. 2-B와 같이

단백질 발현농도가 2배이상 발현이 억제되는 단백질 spot 6 개를 선별하여 MALDI-TOF에 의해 단백질 서열을 결정하였다(Table 1). 그 중에서 pI가 4.5이고 분자량이 24 kDa 단백질의 유사성을 해석한 결과 브라시노스테로이드 생합성에 관여하며 왜성 표현형을 나타내는 신호전달 단백질인 BAK1 (Brassinolide insensitive associated receptor kinase 1)으로 확인되었다. 다른 5개의 단백질을 살펴보면 BCK1은 serine/threonine protein kinase로서 BRI1[5, 29]과 유사한 기능으로 유추할 수 있고, cystein proteinase는 serine carboxyprptidase[14]와 유사한 단백질 분해효소로서의 기능을 유추할 수 있다. sulfutase는 애기장대에서 밝혀진 brassinosteroid sulfotransferase[16]로, peroxidase는 Mazorra[17]에 의하면 항산화효소로서 brassinosteroid의 활성에 영향을 준다고 하였다. 특히, zinc finger factor는 brassinosteroid에 반응하는 단백질로서 잎의 형태나 줄기의 성장에 관여하며 호르몬 활성의 후기에 관여하는 인자와 유사하였다[18]. 따라서 6개의 단백질 spots 모두가 직간접적으로 브리시노스테로이드 생합성관련 신호전달기작에 관련된 단백질로서 BAK1의 발현억제에 관여한 단백질로 추정할 수 있다. 이러한 단백질의 발현 여부를 검정하기 위해 Fig. 3-A와 같이 BAK1의 프라이머를 디자인하여 PCR를 이용하여 증폭한 결과 500 bp의 증폭산물이 Fig. 3-B와 같이 정상적인 토마토에서는 유전자 발현이 높았으나 왜성화된 토마토에서는 발현이 현저히 낮았다. 따라서 영양결핍에 의한 왜성화된 토마토에서도 유전자 발현뿐만 아니라 단백질 발현에서도 BAK1관련 인자가 관여함을 볼 때

Table 1. Identification of down-regulated proteins in seedling of nutrient deficient tomatos shown in Fig.1

Spot ID	pI	MW	Protein quantity		No. of peptides matched	Identity	Accession No.(gi)
			Control	Semi-dwarf			
1106	4.5	24.0	8269	1652	7	Brassinolide insensitive associated receptor kinase 1	29427920
3511	5.4	50.1	2799	710	4	Serine/threonine protein kinase BCK1	417775
4104	5.5	25.0	1927	537	6	Cystein proteinase	25797456
4114	5.7	27.5	1722	743	8	Extracellular sulfatase	25805088
5114	6.1	24.8	1780	706	7	Bromide peroxidase	1345618
6103	6.2	22.5	2064	471	7	Zinc finger protein GLI4	27911003

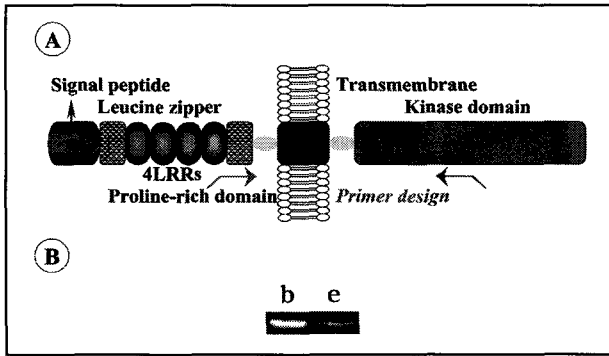


Fig. 3. RT-PCR analysis of BAK1 gene from tomatos stunted by nutrition deficiency under soilless cultivation. A: Structure of the BAK1 gene and primer design, B: PCR products. lane b was treated with 5 mg/kg of iron concentration and lane e was 2.5 mg/kg.

환경변화에 의한 BAK1의 발현차[7] 뿐만 아니라 영양결핍하에서 왜성화 된 토마토도 브레시노스테로이드 생합성관련 신호전달 경로가 관여함을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 보면 영양결핍된 조직이 정상화 될 수 있다면 영양조절에 의해 왜성화 작물을 유도할 수 있음을 시사하고 있어, 목적에 맞는 작물생산에 이용 가능하리라 사료된다.

요 약

BAK1(Brassinolide insensitive associated receptor kinase 1)는 브라시노스테로이드 생합성 대사관련 신호전달 매체이다. BR 생합성 및 신호전달 돌연변이체는 매우 특징적인 난쟁이 표현형을 보인다. 과채류전용 양액배지인 Sonneveld 양액을 이용하여 양분결핍에 의해 왜성을 나타내는 토마토를 선발하였다. 선발된 토마토에 대해 이차원 전기영동법으로 단백질을 분석한 결과, 발현차를 나타내는 28개의 단백질 spot이 분리되었다. 분리된 단백질 spot 중 현저하게 발현이 억제된 단백질 spot 6개를 선발하여 단백질 서열을 결정하였다. 실험결과, pI 4.5, 분자량 24 kDa를 나타내는 단백질은 브라시노스테로이드 생합성에 관여하며 왜성 표현형을 나타내는 신호전달 단백질, BAK1으로 동정되었다. BCK1, cystein proteinase, sulfutase, peroxidase, zinc finger factor 로 동정된 나머지 단백질들은 브레시노스테로이드 생합성관련 신호전달기작에 관여하는 단백질로 추정되었다. BAK1을 검정하기 위해 단백질 서열이 결정된 부위로부터 프라이머를 디자인하여 RT-PCR를 수행한 결과, 증폭된 500 bp의 산물이 정상과 발현차를 보여주었는데 이 결과는 양분조절에 의해서도 BAK1의 발현이 조절될 수 있음을 시사한다.

참 고 문 헌

1. Belkhadir, Y. and J. Chory. 2006. Brassinosteroid signal-

ing: A paradigm for steroid hormone signaling from the cell surface. *Science* **314**, 1410-1411.

2. Bishop, G. J. 2003. Brassinosteroid mutants of crops. *J. Plant Growth Regul.* **22**, 325-335.

3. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-54.

4. Clouse, S. D. 2002. Brassinosteroid signal transduction: Clarifying the pathway from ligand perception to gene expression. *Molecular Cell* **10**, 973-982.

5. Friedrichsen, D. M., C. A. P. Joazeiro, J. M. Li, T. Hunter and J. Chory. 2000. Brassinosteroid-insensitive 1 is a ubiquitously expressed leucine-rich repeat receptor serine/threonine kinase. *Plant Physiol.* **123**, 1247-1255.

6. Grove, M. D., G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. Mandava, J. F. Worley, J. D. Warthen, G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anerson and Jr J. C. Cook. 1979. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated *Brassica napus* pollen. *Nature* **281**, 216-217.

7. Hecht, V., J. P. Vielle-Calzada, M. V. Hartog, E. D. L. Schmidt, K. Boutilier, U. Grossniklaus and S. C. de Vries. 2001. The *Arabidopsis* SOMATIC EMBRYOGENESIS KINASE 1 is expressed in developing ovules and embryos and enhances embryogenic competence in culture. *Plant Physiol.* **127**, 803-816.

8. Holliday, K. 2004. Plant hormones: The interplay of brassinosteroids and auxin. *Current Biology* **14**, R1008-R1010.

9. [http://129.85.19.192/profound\\_bin/Web ProFound.exe](http://129.85.19.192/profound_bin/Web ProFound.exe)

10. Kagale, S., U. D. Divi, J. E. Krochko, W. A. Keller and P. Krishna. 2007. Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses. *Planta* **225**, 353-364.

11. Karlova, R. S. and S. C. de Vries. 2006. Advances in understanding brassinosteroid signaling. *Sci. STKE* **2006** (354), 36.

12. Krishina, P. 2003. Brassinosteroid-mediated stress responses. *J. Plant growth Regul.* **22**, 289-297.

13. Lee, M. O., K. H. Song, H. K. Lee, J. Y. Jung, V. N. Choe and S. Choe. 2002. Metabolic engineering of brassinosteroid biosynthetic pathways. *Korean J. Plant Biotech.* **29**, 139-144.

14. Li, J., K. A. Lease, F. E. Tax and J. C. Walker. 2001. BRS1, a serine carboxypeptidase, regulates BRI1 signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 5916-5921a.

15. Li, J., P. Nagpal, V. Vitart, T. C. McMorris, J. Chory. 1996. A role for brassinosteroids in light-dependent development of *Arabidopsis*. *Science* **272**, 398-401.

16. Marsolais, F., J. Boyd, Y. Paredes, A-M. Schinas, M. Garcia, S. Elzein and L. Varin. Molecular and biochemical characterization of two brassinosteroid sulfotransferases from *Arabidopsis*, AtST4a(At2g14920) and AtST1(At2g03760). *Planta* **225**, 1233-1244.

17. Mazorra, L. M., M. Nunez, M. Hechavarria, F. Coll and M. J. Sanchez-Blanco. 2002. Influence of brassinosteroids

- on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperature. *Biologia Plantarum* **45**, 593-596.
18. Molnar, G., S. Bancos, F. Nagy and M. Szekeres. 2002. Characterization of BRH1, a brassinosteroid-responsive Ring-H2 gene from *Arabidopsis thaliana*. *Planta* **215**, 127-133.
  19. National Institute of Agricultural Science and Technology. 2000. Analysis method of soil and plant. pp. 202. National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea.
  20. Oakley, B. R., D. R. Kirsch and N. R. Morris. 1980. A simplified ultrasensitive silver stain for detecting proteins in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* **105**, 361-363.
  21. Sakamoto, T. and M. Matsuoka. 2006. Characterization of constitutive photomorphogenesis and dwarfism homologs in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Growth Regul.* **25**, 245-251.
  22. Sasse, J. M. 2003. Physiological action of brassinosteroids : An update. *J. Plant Growth Regul.* **22**, 276-288.
  23. Szekeres, M., K. Nemeth, Z. Koncz-Kalman, J. Mathur, A. Kauschmann, T. Altmann, G. P. Redei, F. Nagy, J. Schell and C. Koncz. 1996. Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in *Arabidopsis*. *Cell* **85**, 171-182.
  24. Shevchenko, A., M. Wilm, O. Vorm, and M. Mann. 1996. Mass spectrometric sequencing of proteins silver-stained polyacrylamide gels. *Anal. Chem.* **68**, 850-858.
  25. Tanaka, K., Y. Nakamura, T. Asami, S. Yoshida, T. Matsuo and S. Okamoto. 2003. Physiological roles of brassinosteroids in early growth of *Arabidopsis* : Brassinosteroids have a synergistic relationship with gibberellin as well as auxin in light-growth hypocotyl elongation. *J. Plant Growth Regul.* **22**, 259-271.
  26. Vert, G. and J. Chory. 2006. Downstream nuclear events in brassinosteroid signaling. *Nature* **441**, 96-100.
  27. Vert, G., J. L. Nemhauser, N. Geldner, F. Hong and J. Chory. 2005. Molecular mechanisms of steroid hormone signaling in plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **21**, 177-201.
  28. Wang, X. and J. Chory. 2006. Brassinosteroids regulate dissociation of BAK1, a negative regulator of BRI1 signaling, from the plasma membrane. *Science* **313**, 1118-1122.
  29. Wang, X., X. Li, J. Meisenhelder, T. Hunter, S. Yoshida, T. Asami and J. Chory. 2005. Autoregulation and homodimerization are involved in the activation of the plant steroid receptor BRI1. *Cell* **8**, 855-865.
  30. Whippo, C. W. and R. P. Hangarter. 2005. A brassinosteroid-hypersensitive mutant of BAK1 indicates that a convergence of photomorphogenic and hormonal signaling modulates phototropism. *Plant Physiology* **139**, 448-457.