

환경 스트레스에 관여하는 애기장대 BLH 8, BEL1-Like Homeodomain 8의 기능 분석

박형철 · 박지영 · 백동원 · 윤대진

Functional characterization of *Arabidopsis thaliana* BLH 8, BEL1-Like Homeodomain 8 involved in environmental stresses

Hyeong Cheol Park · Jiyoung Park · Dongwon Baek · Dae-Jin Yun

Received: 8 April 2011 / Accepted: 30 April 2011
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract High salinity is a common stress condition that adversely affects plant growth and crop production. In response to various environmental stresses, plants activate a number of defense genes that function to increase the tolerance. To isolate *Arabidopsis* genes that are involved in abiotic stress responses, we carried out genetic screening using various mutant lines. Among them, the *blh8* (BEL1-Like Homeodomain 8) mutant specifically shows chlorotic phenotypes to ionic (specifically, Na^+ and K^+) stresses, but no differences in root growth. In addition, BLH8 is related to plant development and abiotic stress as predicted by a Graphical Gaussian Model (GGM) network program. It implies that BLH8 functions as a putative transcription factor related to abiotic stress responses. Collectively, our results show that gene network analysis is a useful tool for isolating genes involved in stress adaptation in plants.

Keywords BEL1-like, Environmental stress response, Homeodomain, Salt stress, Signal transduction

서론

지구의 기후변화로 인하여 온난화가 야기됨으로써 해수

면의 상승은 전 세계의 경작 가능한 토양의 20%와 관개 토양 (irrigated land)의 40% 이상이 과대한 염류 축적에 영향을 받고 있는 것으로 알려져 있다 (Rhoades and Loveday 1990). 또한, 간척지에서 안정적인 작물재배는 간척지 조성 후 적어도 10년 이상의 제염작업이 이루어져야 한다. 특히, 간척지는 지대가 낮고 간척전의 지형적 굴곡에 따라 지하해수의 용출이 심하여 상당한 제염기간이 지난 후에도 염해가 나타나게 된다. 동물과는 달리 고착생물로 이동할 수 없는 식물은 성장하기 위해서 미네랄과 같은 필수 영양소를 필요로 하지만, 토양에 과대하게 존재하는 염농도는 식물의 성장을 저해하는 중요한 요소이다. 따라서, 고염 스트레스에 대한 반응 및 적응 기작에 관한 연구와 내염성 관련 유용유전자를 확보하고자 하는 연구가 전세계적으로 많은 연구자들에 의하여 이루어지고 있으며, 미래 인간의 식량자원 확보를 위한 중요한 연구 주제일 것이다.

고염과 같은 환경 스트레스에 노출되게 되면 식물 세포내에 삼투압의 불균형 (osmotic imbalance)과 이온농도의 불균형 (ionic imbalance)이 일어나게 된다. 또한, 2차 스트레스로써 oxidative stress, membrane disorganization, 영양장애, 대사장애, 광합성 장애 등이 초래되며, 결국에는 고사하게 된다. Na^+ 은 독성이 가장 심한 이온 스트레스이며, 어떤 종류의 식물은 음이온인 Cl^- 에 대해서 민감성을 가지는 경우도 있다. 또한, 고염 농도에 의한 삼투압의 불균형은 물의 흡수를 방해하여 생리학적으로는 건조 스트레스를 받은 상태와 유사하다. 이러한 유해 환경 스트레스에 생존하기 위하여 식물체는 여러 가지 방법으로 세포내의 삼투압과 이온농도를 항상 일정하게 유지하고 있다 (Yun 2005).

[†]These authors contributed equally to this work.

H. C. Park[†] (✉) · J. Y. Park[†] · D. W. Baek · D.-J. Yun (✉)
경상대학교 대학원 응용생명과학부, 식물분자생물학 및 유전자조작 연구소
(Division of Applied Life Science (BK21 program) and Plant Molecular Biology and Biotechnology Research Center, Gyeongsang National University, Jinju, 660-701, Korea)
e-mail: hcpark@gnu.ac.kr, djyun@gnu.ac.kr

homeodomain (homeodomain)을 포함하는 단백질은 동물, 곰팡이, 그리고 식물에서 잘 밝혀져 있으며, 초파리에서 형태형성에 관여되는 전사조절 유전자로서 처음으로 보고되었다 (Gehring 1987; Chan et al. 1998). homeodomain은 helix-turn-helix type의 DNA 결합 부위를 형성하는 세계의 α -helices를 포함하는 61개의 잘 보존된 아미노산으로 구성되어 있다 (Otting et al. 1990). 그러므로, homeodomain 단백질들은 전사조절 인자로서 다양한 목적유전자들의 발현에 관여 할 것이다. 식물체에서 homeodomain의 아미노산 서열의 보존성과 추가적인 아미노산의 존재에 의하여 Knotted1, HD-Zip, Glabra2, PHD finger, 그리고, BELL1으로 크게 5개의 그룹으로 나뉘어진다 (Chan et al. 1998). 그 단백질들은 줄기의 정단 분열조직의 유지, 외피의 발달, 그리고, 외피의 특화화와 같은 다양한 식물분화 과정에 관여 하는 것으로 보고된다 (Kerstetter et al. 1997; Hung et al. 1998; Sentoku et al. 2000; Mussig et al. 2000; Ohashi et al. 2003). 이전에 BELL 형태의 homeodomain 단백질들이 애기장대 (Reiser et al. 1995), 보리 (Müller et al. 2001), 감자 (Chen et al. 2003), 그리고, 사과 (Dong et al. 2000)등 에서 보고되었다. 특히, 애기장대에서 BELL1 단백질은 AGAMOUS 유전자의 기능을 저해함으로써 밀씨 발달에 관여 되는 것으로 보고된다 (Reiser et al. 1995; Western and Haughn 1999).

식물체에서 homeodomain을 가지고 있는 단백질은 분화과정에 관여 할 뿐만 아니라 생물학적, 그리고 비생물학적 스트레스에도 관여하고 있다. 그 단백질들은 Abscisic acid (ABA), water stress, 그리고, 병 저항성 유전자의 발현에 관여하고 있다 (Korfhage et al. 1994; Mayda et al. 1999; Soderman et al. 1999; Himmelbach et al. 2002). 또한, 대두에서 병 저항성 및 내염성에 관여함으로써 특이한 기능을 갖는 칼모듈린 단백질인 *GmCaM-4* 유전자의 발현에 관여된다는 보고가 있다 (Park et al. 2007). 이와 같이, 식물체에서 homeodomain을 갖는 단백질들이 다양한 기능을 수행 하는 것으로 알려져 있지만, BELL 도메인을 갖는 homeodomain 단백질은 이러한 환경적인 스트레스에 관여가 거의 보고 되고 있지 않다. 오직 벼에서 BELL 형태의 homeodomain 단백질인, OsBIHD1이 병 저항성에 관여한다는 논문이 보고되어 있다 (Luo et al. 2005). 그러므로, 환경적인 스트레스에 관여하는 BELL 형태의 homeodomain 단백질의 연구는 그 의미가 크다고 할 수 있다.

세포내의 다양한 신호전달 과정에서 여러 가지 유전자들이 서로 상호작용을 하게 된다. 애기장대에서 방대한 정보로부터 유전자들의 발현 정도에 따라 다양하게 그룹을 만들고 분류를 수행하였다 (Paterson et al. 2004; Taji et al. 2004; Gong et al. 2005). 그와 같은 분류방법 중에서 Graphical Gaussian Model (GGM)은 비슷한 발현 양상을 보

이는 유전자들 중에서 각각의 유전자들의 인과관계를 확인하고, 서로의 상호관계를 network구조로 형성하여 유전자간의 연관성을 연구하는 방법이다 (Wu et al. 2003; Ma et al. 2007). 꽃 분화발달에 관여하고 auxin 반응에서 negative 조절자로서 보고된 MONOPTEROS 전사조절인자의 기능은 다양한 유전자들과 상호작용하여 여러 가지 기능을 수행 할 것으로 추측되었다 (Wenzel et al. 2007).

본 연구에서는 이와 같은 GGM program을 이용하여 MONOPTEROS 유전자와 상호관계가 있고, 발달과정과 비생물학적 스트레스에 관여하는 다양한 전사조절인자를 찾을 수 있었다. 그 중에서 *AtBLH8*의 유전자를 선별하였으며, 그것의 돌연변이체를 구축한 후에 다양한 환경 스트레스에 관여도를 확인하였다. 그 단백질은 BELL 형태의 homeodomain을 가지는 단백질로써, 특이하게도 고농도의 NaCl과 KCl에서 뿌리성장에는 변화 없지만, 잎의 백화현상 유발에 크게 관여함을 알았다. 또한, GGM program으로부터 줄기 정단분열 조직의 발달에 관여하는 유전자들과 상호관계를 이룬다는 것을 확인하였다. 그러므로, *AtBLH8* 단백질은 식물 발달과정 및 환경 스트레스와 상호작용 할 것으로 예측 되어진다.

재료 및 방법

식물재료 및 생육조건

애기장대 식물체의 생태형은 *Col-0*를 사용하였으며, *atblh8-1* (CS846687) 돌연변이체는 오하이오 주립대학교의 *Arabidopsis* Biological Resource Center (ABRC; <http://www.arabidopsis.org>)로부터 분양 받았다. 애기장대의 종자는 70% 에탄올을 사용하여 멸균한 후, 2% NaOCl 용액을 사용하여 10분 동안 소독하였다. 또한, 멸균수를 이용하여 종자의 표면에 NaOCl 용액이 묻어있지 않도록 5회 반복 세척 하였다. 식물배지는 MS salt, 2% sucrose (pH 5.7) 그리고, 1.2% agar 혹은 0.25% phytagel을 넣어서 만든 고체배지를 사용하였다. 식물을 발아시키기 전에 4°C에서 암 상태로 3일 동안 춘화 처리를 하였다. 식물 배양 조건은 22±2°C 온도에서 long day (낮 16 시간, 밤 8 시간) 조건에서 배양하였다.

애기장대 *atblh8* 돌연변이체의 분리

ABRC로부터 확보된 *atblh8-1*의 동질 돌연변이체를 분리하기 위하여 3주간 키운 애기장대의 잎으로부터 genomic DNA를 확보하였다 (Krysan et al. 1996). 애기장대의 잎을 절취하여 액체질소로 냉동시킨 후 파쇄봉을 이용하여 조직을 분쇄하였다. genomic DNA 분리 용액 (0.2 M Tris-HCl

pH 9.0, 0.4 M LiCl, 25 mM EDTA, 1% SDS)을 500 μ l 첨가한 후 vortex하여 용액에 완전히 섞이도록 하였다. 동일 부피의 Chloroform를 넣은 후 1분간 vortex하여 genomic DNA 분리 용액과 Chloroform을 섞어 주었다. 원심분리기를 이용하여 10,000 g에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 옮기고, 100% 에탄올을 500 μ l 첨가하여 genomic DNA를 침전시켰다. 그리고, 10,000 g에서 10분간 원심분리하여 순수한 genomic DNA를 분리하였다. 순수 분리된 genomic DNA를 주형으로 사용하여 *AtBLH8* primers (LP and RP)와 T-DNA의 LB primer로 genomic PCR을 수행하여 *atblh8-1* 동질 돌연변이체를 구축하였다.

RT-PCR 검정

2주 동안 성장한 *Col-0*와 *atblh8-1* 돌연변이체로부터 총 RNA를 RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen)를 사용하여 분리하였다. 그리고, 실온에서 DNase I (deoxyribonuclease I, Sigma)를 15분 동안 처리하고, 70°C에서 10분 동안 불활성화시켰다. First-strand cDNA는 2 μ g의 총 RNA와 oligo (dT)₂₀ primer를 포함하는 25 μ l의 반응 혼합물에 ReverTra Ace reverse transcriptase (100 unit μ L⁻¹, TOYOBO)의 역전사 효소를 사용하여 합성하였다. *AtBLH8*과 *Tubulin*의 cDNA 합성을 위하여 사용된 primers는 다음과 같다 [(for *AtBLH8*: Forward primer; 5'-GGATCCATGGATATGATAAAACCAGATTTT-3', Reverse primer; 5'-TTACCAGTACCCGAACAAGCCACC-3')] 그리고, (for *Tubulin*: Forward primer; 5'-CCAACAACGTGA AATCGACAG-3', Reverse primer; 5'-TCTTGGTATTGCTGG TACTCT-3'). RT-PCR에서 사용된 효소는 EF-Taq DNA polymerase (2.5 unit μ L⁻¹, Solgent, Daejeon, Korea)를 사용하였으며, 95°C에서 2분 동안 예열과정을 거친 후, 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 2분 동안 25 cycles을 수행하였다. 최종적으로 72°C에서 10분의 extension과정을 추가로 진행하였다. PCR 산물은 agarose gel에서 전기영동한 후, UV 조건에서 ethidium bromide를 이용하여 관찰하였다.

식물체의 스트레스 처리 조건

다양한 환경 스트레스를 처리하기 위하여, MS salt, 2% sucrose (pH 5.7) 그리고, 1.2% agar 혹은 0.25% phytigel을 포함하는 기본배지에 NaCl (0, 50, 100, 150, 200 mM), KCl (0, 50, 100, 150, 200 mM), LiCl (0, 5, 15, 20 mM), 그리고, Mannitol (0, 100, 200, 300, 400 mM)을 각각 넣어서 실험을 수행하였다. plate에서 자라는 유묘는 수직으로 세워서 22 \pm 2°C 온도에서 long day (낮 16 시간, 밤 8 시간) 조건에서 백화현상 및 뿌리성장을 관찰하였다.

결과 및 고찰

애기장대의 *atblh8* 돌연변이체의 분리 및 T-DNA 삽입위치 확인

GGM program은 다양한 환경조건에서 유사한 발현 양상을 보이는 유전자들을 network구조로 형성하여 유전자간의 연관성을 연구하는 방법이다 (Wu et al. 2003; Ma et al. 2007). 그리고, 애기장대의 MONOPTEROS 전사조절인자는 꽃의 발달에 관여하고 auxin 반응에서 중요한 negative 조절자로서 보고되고 있다 (Wenzel et al. 2007). 그러므로, GGM program을 이용하여 MONOPTEROS 유전자와 상호관계가 있는 다양한 전사조절인자들의 network를 만들었으며, 발달과정과 비생물학적 스트레스에 관여 할 것으로 예측되는 *AtBLH8*의 유전자를 선별하였다. 그 유전자의 cDNA는 약 1752 bp의 염기서열로 구성 되어 있으며, genomic 유전자 서열에서 4개의 exon과 3개의 intron으로 구성되어 있었다 (Fig. 1A). ABRC로부터 돌연변이체를 확인한 결과 T-DNA가 promoter 부위에 존재함을 확인하였다. *AtBLH8*의 돌연변이체 (CS846687)를 ABRC로부터 분양 받은 후에 동질의 돌연변이체를 구축 하였으며, 그 돌연변이체를 *atblh8-1*이라고 명명하였다 (Fig. 1B). *atblh8-1*

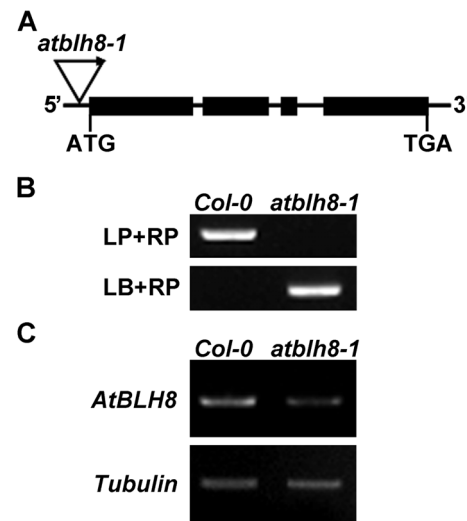


Fig. 1 Identification of *atblh8-1* T-DNA knock-down mutant. (A) Schematic illustration indicating the location of a T-DNA insertion in *AtBLH8*. Trangle indicates the position of the T-DNA insertion. Genomic *AtBLH8* DNA is represented by exons (black boxes) and introns. (B) Genotyping of *atblh8-1* mutant. Genomic DNA was isolated from *Col-0* and *atblh8-1* mutant plants. PCR was performed with gene specific primers (LP and RP) and T-DNA border primer (LB) sets, respectively. (C) RT-PCR analysis of *AtBLH8* expression in *Col-0* and *atblh8-1* mutant seedlings. Total RNA was extracted from 14-day-old *Col-0* and *atblh8-1* mutant seedlings. *Tubulin* transcript abundance is shown as loading control.

의 돌연변이체로부터 *AtBLH8* 유전자의 발현정도를 대조 균인 *Tubulin* 유전자를 이용하여 RT-PCR을 통하여 분석하였다. 야생형인 *Col-0* 식물체에서 *AtBLH8* 발현이 높게 증가함을 알 수 있었고, *atblh8-1*의 돌연변이체에서는 약하게 발현됨으로써, 그 유전자의 발현이 knock-down되는 돌연변이체임을 확인하였다 (Fig. 1C). 그 돌연변이체를 가지고 다양한 환경 스트레스 저항성 실험을 수행하였다.

AtBLH8 단백질의 구조 및 특징 분석

애기장대에서 BELL 형태의 유전자 군은 13개로 구성되어 있지만, 그 기능에 관한 보고는 미비한 실정이다. 현재, AtBELL1은 밀씨 발달의 조절에 관여한다고 보고되었다 (Reiser et al. 1995). 또한, 사과 MDH1과 감자 StBEL5는 각각 열매형성과 괴경 발달을 조절한다 (Dong et al. 2000; Chen et al. 2003). 이와 같이 식물체에서 BELL 형태의 homeodomain 단백질은 주로 꽃 분화 및 발달과정에 관여할 것으로 사려된다. AtBLH8 단백질은 BELL 형태의 homeodomain 단백질들이 가지고 있는 BELL 도메인과 C-말단 부위에 homeodomain이 잘 보존되어 있었다 (Fig. 2A). BELL 도메인은 KNOX 단백질과 이형 접합체를 형성하며, homeodomain은 DNA와 결합하여 신호를 전달하는 것으로 알려진다 (Fig. 2B; Müller et al. 2001; Cole et al.

2006). 그리고, 애기장대 BELL 단백질의 계통도에서 각각의 그룹으로부터 BELL 도메인의 아미노산을 분류하였다 (Becker et al. 2002). 분류된 아미노산으로 각각의 아미노산을 비교해 보면, 상동성은 많이 낮아 보이지만, 유사성은 아주 높았다 (Fig. 2C).

NaCl과 KCl에 의한 *atblh8-1* 돌연변이체의 민감성 분석

식물체에서 homeodomain을 갖는 단백질은 분화와 발달에 관여할 뿐만 아니라 다양한 환경적인 스트레스에 관여한다고 보고된다. 그러나, BELL 도메인을 갖는 homeodomain 단백질은 이러한 환경적인 스트레스에 관여가 거의 보고되고 있지 않다. 최근에 벼의 BELL 형태의 homeodomain 단백질인, OsBIHD1이 병 저항성에 관여할 것으로 보고되었다 (Luo et al. 2005). 그러므로, 비생물학적인 스트레스에 관여하는 BELL 형태의 homeodomain 단백질의 연구가 요구되어지는 실정이다. 대조균인 *Col-0*와 *atblh8-1* 돌연변이체를 이용하여 150 mM NaCl 조건에서 민감도를 확인하였다. Figure 3A의 결과에 의하면 *atblh8-1* 돌연변이체에서 백화현상이 확연히 나타났으며, 그 정도는 약 92% 정도로 높게 나타났다 (Fig. 3B). 또한, NaCl 농도를 125 mM과 150 mM로 각각 나누어서 백화현상 및 뿌리 성장을 동시에 비교해 보았다. 125 mM NaCl 농도에서 *atblh8-1*

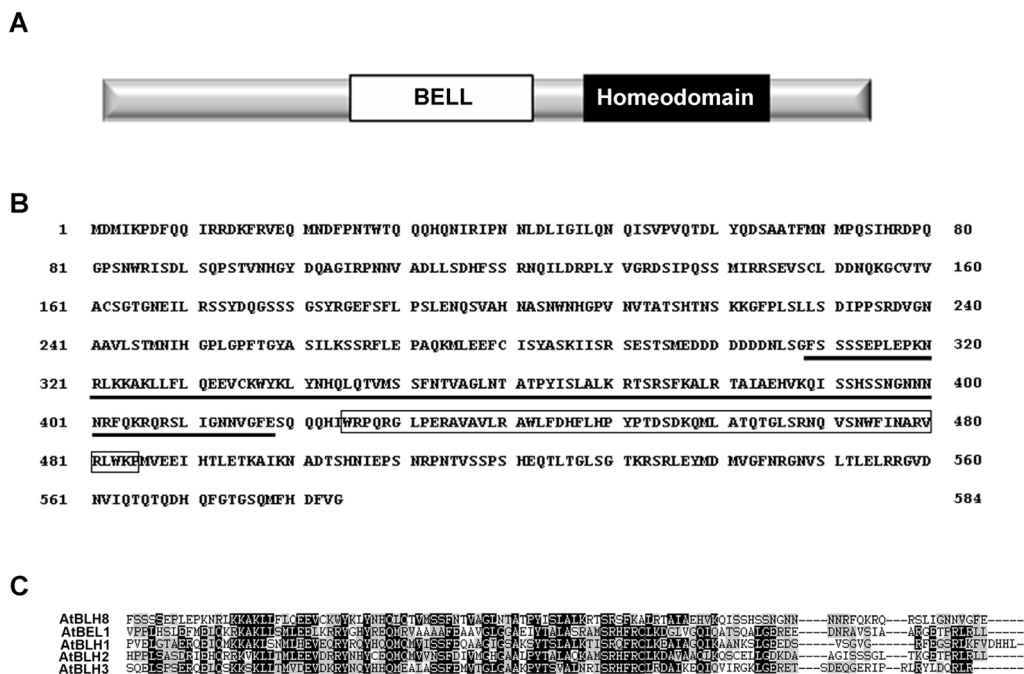


Fig. 2 Amino acid sequence comparison of AtBLH8 and other BLH proteins from *Arabidopsis*. (A) Schematic map of each domain in AtBLH8 protein. (B) Amino acid sequence of AtBLH8. The BELL domain is underlined and a homeodomain is indicated in the box. (C) Amino acid sequence alignment of BELL domains from five BELL proteins in *Arabidopsis*. Identical and similar amino acids are highlighted with black and gray shadings, respectively. Dashes indicate the absence of residues. Genbank accession numbers are given in parenthesis: AtBLH8 (At2g27990), AtBEL1 (At5g41410), AtBLH1 (At2g35940), AtBLH2 (At4g36870), and AtBLH3 (At1g75410).

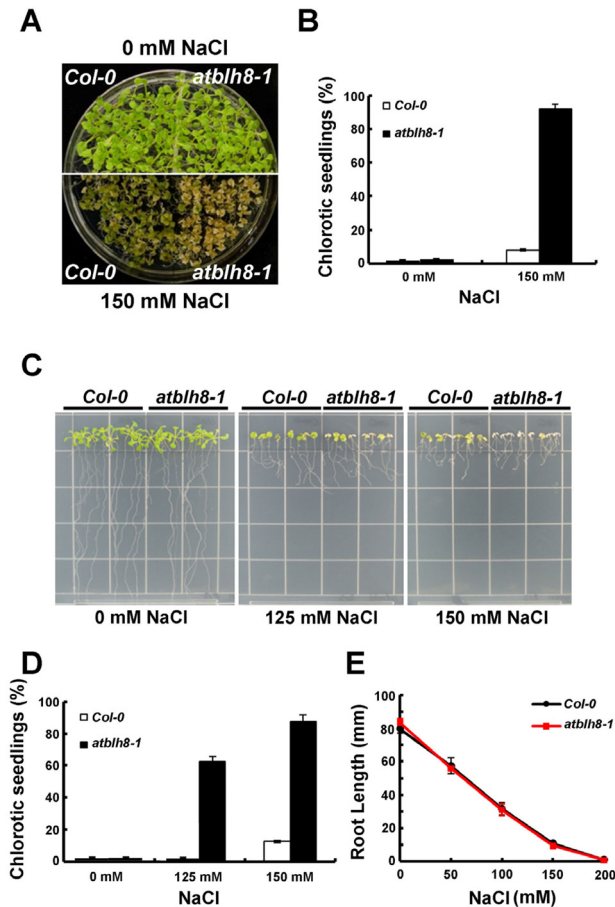


Fig. 3 Phenotypes of *atblh8-1* mutant after NaCl treatments. (A) Chlorotic phenotype of *atblh8-1* mutant. *atblh8-1* mutant shows the chlorosis phenotype on MS media supplemented with 150 mM NaCl for 20 days. (B) Percentages of chlorotic seedlings after 150 mM NaCl treatment. The numbers of seedlings with at least two chlorotic leaves were scored. Data represent mean±SE of three independent experiments (n = 50). (C) Root growth of *atblh8-1* mutant. Photographs were taken 11 days after transfer of three-day-old seedlings to MS media supplemented with 125 mM NaCl or 150 mM NaCl, respectively. (D) Percentages of chlorotic seedlings after 125 mM NaCl or 150 mM NaCl treatments. The numbers of seedlings with at least two chlorotic leaves were scored. Data represent mean±SE of three independent experiments (n = 9). (E) Length of primary roots in *Col-0* and *atblh8-1* mutant seedlings on NaCl treatments. Data represent mean±SE of three independent experiments (n = 12).

돌연변이체에서 62.5%의 백화현상을 보였다. 또한, 150 mM NaCl 농도에서 *atblh8-1* 돌연변이체는 87.5%의 백화현상을 보여 주었다 (Fig. 3C, D). 그러나, 다양한 NaCl 농도에서 *atblh8-1* 돌연변이체의 뿌리 성장은 *Col-0*와 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3C, E).

다양한 이온과 삼투압 스트레스에서 *atblh8-1* 돌연변이체의 백화현상을 관찰하기 위해서 100 mM과 150 mM KCl에서 백화현상 및 뿌리성장을 확인하였다. 100 mM KCl 농도에서 *atblh8-1* 돌연변이체는 83.3%의 백화현상을 보

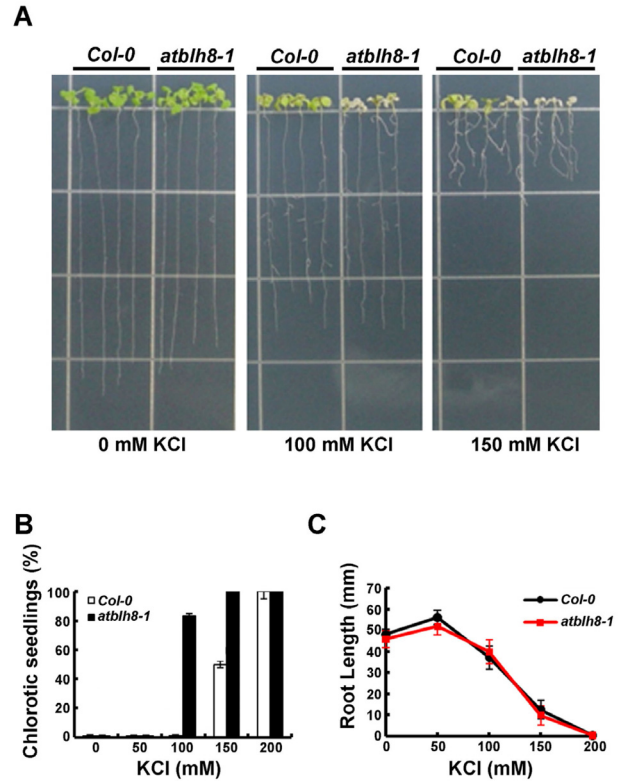


Fig. 4 Phenotypes of *atblh8-1* mutant after KCl treatments. (A) Root growth of *atblh8-1* mutant. Photographs were taken 11 days after transfer of three-day-old seedlings to MS media supplemented with 100 mM KCl or 150 mM KCl. (B) Percentages of chlorotic seedlings after KCl treatments of various concentrations. The numbers of seedlings with at least two chlorotic leaves were scored. Data represent mean±SE of three independent experiments (n = 12). (C) Length of primary roots in *Col-0* and *atblh8-1* mutant seedlings on KCl treatments of various concentrations. Data represent mean±SE of three independent experiments (n = 12).

였고, 150 mM KCl 농도에서는 100%의 백화현상을 보였다 (Fig. 4A, B). 그러나, NaCl 처리와 마찬가지로 뿌리성장의 차이는 전혀 보이지 않았다 (Fig. 4A, C). 또한, 다양한 농도의 LiCl와 Mannitol을 처리해 보면 *atblh8-1* 돌연변이체의 백화현상과 뿌리성장은 *Col-0*와 전혀 차이를 보이지 않았다 (data not shown). 이와 같은 결과로부터 *AtBLH8*의 단백질은 애기장대에서 잎의 발달 및 잎에서 NaCl 그리고, KCl과 관련된 스트레스에 중요한 기능을 수행할 것으로 사려된다.

GGM (Graphical Gaussian Model) program에 의한 *AtBLH8* 유전자의 gene networks

GGM program을 이용하여 MONOPTEROS 전사조절인자와 상호작용하는 network로부터 *AtBLH8* 유전자를 분리하였다. 그러므로, *AtBLH8* 유전자를 이용하여 GGM program에서 상호작용 할 것으로 예측되는 유전자들을 확인해

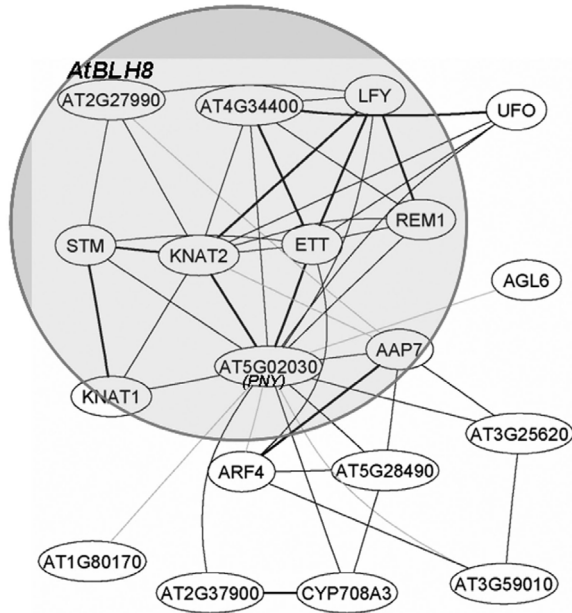


Fig. 5 Gene networks of *AtBLH8* by GGM program. The genes included on circle are involved in meristem development except AAP7. *AtBLH8* was closely linked to the transcription factors such as LFY, STM, and REM1 which are involved in development of meristem. Gene network was constructed by Graphical Gaussian Model (GGM) program.

보았다 (Fig. 5). Figure 5에서 하나의 원에 속해있는 유전자는 AAP7 유전자를 제외하고 모두 식물 분열조직의 발달에 관여하는 유전자들로 그룹 되었다. 이것은 앞에서 예상했듯이 식물의 분화 및 발달에 관여함을 시사한다. 또한, 호르몬과 다양한 신호전달에 관여하는 유전자들도 함께 상호작용 할 것으로 보임으로써, 이런 유전자들을 이용하여 환경 스트레스에 관여도를 관찰 할 수 있다. 결론적으로, GGM program으로부터 분리한 *AtBLH8* 단백질은 앞에서 고농도의 NaCl과 KCl과 같은 특이적 환경 스트레스 조건에서 중요한 기능을 수행 할 것으로 사려된다.

적 요

고염 스트레스는 식물의 성장과 수확량에 치명적인 영향을 야기한다. 그와 같은, 환경 스트레스에 의하여 식물은 다양한 유전자의 발현으로 저항성을 가지게 하는 기작이 발달되어 있다. 본 연구에서는 애기장대에서 다양한 환경 스트레스에 관여하는 유전자를 분리할 목적으로 GGM (Graphical Gaussian Model) program을 사용한 후, *BLH8* (BEL1-Like Homeodomain Gene 8) 유전자의 돌연변이 식물체를 구축하였다. *atblh8-1* 돌연변이체는 고농도의 Na⁺과 K⁺ 이온에 특이적으로 백화현상을 보이지만, 뿌리 성장에는 변화를 보이지 않았다. 그러므로, *BLH8* 단백질은 Na⁺과 K⁺과 같은 환경스트레스 저항성에 관여하는 중요

한 인자임을 시사한다. 이와 같이, GGM program은 환경 스트레스에 관여하는 유전자를 분리하기 위한 유용한 도구일 것으로 사려된다.

사 사

본 연구는 교육과학기술부의 재원으로 World Class University (WCU) Program 연구비 (R32-10148)와 한국연구재단의 지원 연구비 (NRF-2010-359-F00006)로 수행하였음.

인용문헌

Becker A, Bey M, Bürglin TR, Saedler H, Theissen G (2002) Ancestry and diversity of BEL1-like homeobox genes revealed by gymnosperm (*Gnetum gnemon*) homologs. *Dev Genes Evol* 212:452-457

Chan RL, Gago GM, Palena CM, Gonzalez DH (1998) Homeoboxes in plant development. *Biochim Biophys Acta* 1442:1-19

Chen H, Rosin FM, Prat S, Hannapel DJ (2003) Interacting transcription factors from the three-amino acid loop extension superclass regulate tuber formation. *Plant Physiol* 132:1391-1404

Cole M, Nolte C, Werr W (2006) Nuclear import of the transcription factor SHOOT MERISTEMLESS depends on heterodimerization with BLH proteins expressed in discrete subdomains of the shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana*. *Nucl Acids Res* 34:1281-1292

Dong YH, Yao JL, Atkinson RG, Putterill JJ, Morris BA, Gardner RC (2000) MDH1: an apple homeobox gene belonging to the BEL1 family. *Plant Mol Biol* 42:623-633

Gehring WJ (1987) Homeoboxes in the study of development. *Science* 236:1245-1252

Gong Q, Li P, Ma S, Indu Rupassara S, Bohnert HJ (2005) Salinity stress adaptation competence in the extremophile *Thellungiella halophila* in comparison with its relative *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 44:826-839

Himmelbach A, Hoffmann T, Leube M, Hohener B, Grill E (2002) Homeodomain protein ATHB6 is a target of the protein phosphatase ABI1 and regulates hormone responses in *Arabidopsis*. *EMBO J* 21:3029-3038

Hung CY, Lin Y, Zhang M, Pollock S, Marks MD, Schiefelbein J (1998) A common position-dependent mechanism controls cell-type patterning and GLABRA2 regulation in the root and hypocotyls epidermis of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 117: 73-84

Kerstetter RA, Laudencia-Chingcuanco D, Smith LG, Hake S (1997) Loss-of-function mutations in the maize homeobox gene, knotted1, are defective in shoot meristem maintenance. *Development* 124:3045-3054

Korfhage U, Trezzini GF, Meier I, Hahlbrock K, Somssich IE (1994) Plant homeodomain protein involved on transcriptional

- regulation of a pathogen defense-related gene. *Plant Cell* 6: 695-708
- Krysan PJ, Young JC, Tax F, Sussman MR (1996) Identification of transferred DNA insertions within *Arabidopsis* genes involved in signal transduction and ion transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 93:8145-8150
- Luo H, Song F, Goodman RM, Zheng Z (2005) Up-regulation of OsBIHD1, a rice gene encoding BELL homeodomain transcriptional factor, in disease resistance responses. *Plant Biol* 7: 459-468
- Ma S, Gong Q, Bohnert HJ (2007) An *Arabidopsis* gene network based on the graphical Gaussian model. *Genome Res* 17: 1614-1625
- Mayda E, Tornero P, Conejero V, Vera P (1999) A tomato homeobox gene (HD-zip) is involved in limiting the spread of programmed cell death. *Plant J* 20:591-600
- Müller J, Wang Y, Franzen R, Santi L, Salamini F, Rohde W (2001) *In vitro* interactions between barley TALE homeodomain proteins suggest a role for protein-protein associations in the regulation of *Knox* gene function. *Plant J* 27:13-23
- Mussig C, Kauschmann A, Clouse SD, Altmann T (2000) The *Arabidopsis* PHD-finger protein SHL is required for proper development and fertility. *Mol Gen Genet* 264:363-370
- Ohashi Y, Oka A, Rodrigues-Pousada R, Possenti M, Ruberti I, Morelli G, Aoyama T (2003) Modulation of phospholipids signaling by GLABRA2 in root-hair pattern formation. *Science* 300:1427-1430
- Otting G, Qian YQ, Billeter M, Müller M, Affolter M, Gehring WJ, Wuthrich K (1990) Protein-DNA contacts in the structure of a homeodomain-DNA complex determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy in solution. *EMBO J* 9:3085-3092
- Park HC, Kim ML, Lee SM, Bahk JD, Yun D-J, Lim CO, Hong JC, Lee SY, Cho MJ, Chung WS (2007) Pathogen-induced binding of the soybean zinc finger homeodomain proteins GmZF-HD1 and GmZF-HD2 to two repeats of ATTA homeodomain binding site in the calmodulin isoform 4 (GmCaM4) promoter. *Nucl Acids Res* 35:3612-3623
- Paterson AH, Bowers JE, Chapman BA, Peterson DG, Rong J, Wicker TM (2004) Comparative genome analysis of monocots and dicots, toward characterization of angiosperm diversity. *Curr Opin Biotechnol* 15:120-125
- Reiser L, Modrusan Z, Margossian L, Samach A, Ohad N, Haughn GW, Fisher RK (1995) The *BELL1* gene encodes a homeodomain protein involved in pattern formation in the *Arabidopsis* ovule primordium. *Cell* 83:735-742
- Rhoades JD, Loveday J (1990) Salinity in irrigated agriculture. In: American Society of Civil Engineers, Irrigation of Agricultural Crops (Steward, B. A. and Nielsen, D. R. eds). Am. Soc. Agronomists, Monograph 30:1089-1142
- Sentoku N, Sato Y, Matsuoka M (2000) Overexpression of rice *OSH* genes induces ectopic shoots on leaf sheaths of transgenic rice plants. *Developmental Biol* 220:358-364
- Soderman E, Hjellstrom M, Fahleson J, Engstrom P (1999) The HD-Zip gene ATHB6 in *Arabidopsis* is expressed in developing leaves, roots and carpels and up-regulated by water deficit conditions. *Plant Mol Biol* 40:1073-1083
- Taji T, Seki M, Satou M, Sakurai T, Kobayashi M, Ishiyama K, Narusaka Y, Narusaka M, Zhu JK, Shinozaki K (2004) Comparative genomics in salt tolerance between *Arabidopsis* and *Arabidopsis*-related halophyte salt cress using *Arabidopsis* microarray. *Plant Physiol* 135:1697-1709
- Wenzel CL, Schuetz M, Yu Q, Mattsson J (2007) Dynamics of MONOPTEROS and PIN-FORMED1 expression during leaf vein pattern formation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 49: 387-398
- Western TL, Haughn GW (1999) *BELL1* and *AGAMOUS* genes promote ovule identity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 18: 329-336
- Wu X, Ye Y, Subramanian K (2003) Interactive analysis of gene interactions using graphical gaussian model. In: Proceedings of the ACMSIGKDD Workshop on Data Mining in Bioinformatics. 3:63-69
- Yun D-J (2005) Molecular mechanism of plant adaption to high salinity. *Korean J Plant Biotechnol* 32:1-14