

생물학 및 비생물학적 스트레스 반응에서의 NPR1 기능 고찰

정미선 · 김세원 · 윤대진

Biological function of nonexpressor of pathogenesis-related genes 1 (NPR1) in response to biotic and abiotic stresses

Mi Sun Cheong · Sewon Kim · Dae-Jin Yun

Received: 10 May 2016 / Revised: 11 July 2016 / Revised: 30 July 2016 / Accepted: 5 August 2016

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Plants can recognize and respond in various ways to diverse environmental stresses, including pathogenic microorganisms, salt, drought, and low temperature. Salicylic acid (SA) is one phytohormone that plays important roles in the regulation of plant growth and development. Nonexpressor of pathogenesis-related genes 1 (NPR1) was originally identified as a core protein that could function as a transcriptional co-regulator and SA receptor during systemic acquired resistance (SAR), a plant immune response that could activate PR genes after pre-exposure of a pathogen. Although the function of NPR1 in plant defense response and the role of SA hormone in the regulation of plant physiological processes have been well characterized, the biological role of NPR1 in plant abiotic stress responses is largely unknown. In this review, we will summarize and discuss the current understanding of NPR1 function in response to plant environmental stresses.

Keywords Environmental stress, NPR1, salicylic acid (SA), redox

M. S. Cheong · D.-J. Yun (✉)
경상대학교 대학원 응용생명과학부, 식물생명공학연구소
(Division of Applied Life Science (BK21plus program), Plant Molecular Biology and Biotechnology Research Center, Gyeongsang National University, Jinju Daero 501, Jinju, 52828, Korea)
e-mail: djyun@gnu.ac.kr

S. W. Kim
한국원자력연구원 첨단방사선연구소
(Advanced Radiation Technology Institute (ARTI), Korea Atomic Energy Research Institute (KAERI), 29 Chungjeong-ro, Jeongjeup, 56212, Korea)

서 언

식물은 고염, 건조, 저온과 같은 비생물학적(abiotic) 요인과 생물학적(biotic) 요인에 기인한 환경 스트레스를 인식하고, 반응하며 다양한 방법을 통하여 적응할 수 있는 능력을 가지고 있다. NPR1은 식물이 병원균에 대한 면역반응인 전신 획득 저항성(SAR)시에 활성화 되는 pathogenesis-related (PR) gene 1의 발현에 관여하는 단백질로 최초 발견되었으며, 병원균 침입 시 PR유전자의 발현을 위한 transcriptional co-activator 및 병 저항성 관련 호르몬인 salicylic acid (SA)의 수용체로 기능하는 것으로 알려져 있다. 최근, NPR1이 식물 병원균과 같은 생물학적 스트레스(biotic stress) 이외에도 고염, 고온, 저온, 중금속 등과 같은 비생물학적 스트레스(abiotic stress)에서의 역할이 보고되고 있다. 따라서, 본 리뷰에서는 생물학적 반응은 물론 비생물학적 스트레스반응에 관여하는 NPR1의 생물학적 기능을 중심으로 고찰하고자 한다.

개 요

사막화, 오존층 파괴, 열대우림 소실, 산업화에 의한 온실가스 대량 배출 등으로 인한 기후변화는 전 세계 경작지 면적을 급격하게 감소시키고 있다. World watch 연구소는 환경 악화 및 급증하는 인구등과 같은 이유로 세계적인 식량 위기가 조만간 닥칠 것이라고 전망하고 있으며, 식량 문제는 21세기 자연과학이 해결해야 할 가장 중요한 연구 과제 중 하나이다.

이동성이 없는 생물체인 식물은 생존을 위해 외부의 환경 변화를 민감하게 감지한다. 감지한 환경 변화를 신호화하여 신호전달 경로를 통하여 생체방어 유전자들을 활성화시키

고, 외부 환경 변화에 적응, 저항할 수 있게 반응한다(Suzuki et al. 2014; Huot et al. 2014). 이 과정에서 식물은 환경 스트레스에 적응, 저항하는 것과 식물자체의 생육을 유지하는 데 균형을 필요로 한다. 때문에, 식물이 외부 스트레스 환경에 노출되게 되면 생육이 저해되며, 농작물의 경우 생산율이 현저하게 감소하게 되는 것이다. 최근 통계 보고에 의하면 경작되는 옥수수, 쌀, 밀, 그리고 콩과 같은 농산물의 수확량이 수확량의 60% 이상이 기후 영향을 받는다고 한다(Ray et al. 2015; FAO 2014). 따라서 식물이 환경 재해(병해, 가뭄, 고염, 냉해 등)를 어떻게 인식하고, 어떤 생체방어 시스템을 작동하여 환경에 적응하는가에 관한 연구는 미래 인류의 생존이 걸려있는 식량문제 해결과 직결된다. 뿐만 아니라, 환경 스트레스에 저항성을 부여하는 유용 유전자 확보 및 이를 이용, 응용한 재해 저항성 작물체 개발은 미래 인류의 식량 문제를 해결 수 있는 유일한 대안으로 여겨지고 있다(Tester and Langridge, 2010). 이러한 유용 유전자를 확보하기에 앞서, 환경 스트레스에 반응, 적응, 저항하는데 있어서 식물이 가지는 기작의 이해는 아주 중요하다. 즉, 스트레스 반응에 관여하는 유전자들의 역할 이해는 필수적이다.

각각의 환경 스트레스에 관련된 다양한 유전자들의 역할들이 분자생물학의 발달과 함께 식물학자들에 의해 밝혀지고 있다. 그 중에서도, NPR1은 직접적인 전사활성이 없는 전사인자(transcriptional co-regulator)로써, 세포 신호 전달 과정에서 전사인자보다는 상위단계에서 기능을 하는 유전자이다. 뿐만 아니라, 최근 NPR1 단백질이 SA와 ABA와 같은 식물 호르몬에 의해 조절됨이 알려짐으로써, 환경스트레스 반응에 있어서 핵심적인 역할을 하는 유전자로 이해되고 있다(Pajeroska-Mukhtar et al. 2013). 이에 본 저자들은 지금까지의 NPR1의 생화학적 특성과 다양한 환경 스트레스(생물학적, 비생물학적 스트레스)에 대한 식물의 생리학적 반응에 미치는 영향에 대하여 지금까지 연구된 자료를 정리해 보고자 한다.

NPR1 (Nonexpressor of pathogenesis-related genes 1)의 동정 및 생물학적 스트레스 반응에 NPR1의 기능해석

환경 스트레스는 인위적으로 크게 생물학적(biotic) 스트레스와 비생물학적(abiotic) 스트레스로 구분 된다. 그 중 생물학적 스트레스는 병원균과 같은 유기체에 의해 유도되는 스트레스를, 비생물학적인 스트레스는 고염, 가뭄, 저온과 같은 비유기체에 의한 스트레스를 의미한다.

생물학 스트레스에 반응하는 식물의 면역반응은 그 중에서도 전신 획득 저항성(systemic acquired resistance; SAR)은 SA 호르몬과 활성산소를 매개로 하여 면역 반응이 유도되는 것으로 이해하고 있을 뿐, 현재까지도 어떻게 SA가 SAR을 유도하는지는 완벽히 이해하지 못하고 있었다. 하지만,

NPR1 유전자의 동정으로 이에 관한 연구는 가속도가 붙게 되었다.

전신 획득 저항성(SAR)에 있어서, SA의 축적은 PR 유전자의 발현과 직접적으로 연결되어 있는데, 1994년 직접적으로 SA를 처리하여도 PR 유전자를 발현하지 않은 돌연변이 식물체를 선별하는 과정에서 NPR1 (Nonexpressor of pathogenesis-related genes 1)이 동정되었다(Cao et al. 1994; 1997). NPR1 allele은 SAR을 연구하는 다른 그룹에서도 동정 보고가 되어, SAR 신호 전달 과정에 있어서 필요한 성분(components)를 선별하는 과정에서 NIM1 (non immunity 1; Delaney et al. 1995)이라는 이름으로, SAR을 유도하는 SA 처리에 insensitive 한 반응을 보이는 SAI1 (SA insensitive 1; Shah et al. 1997)이라는 이름뿐만 아니라, 비병원성 병원균(avirulent pathogen)에서도 민감성이 증가한 표현형을 보임으로 인해서 EDS17 (enhanced disease susceptibility 17; Volko et al. 1998)이라는 이름으로도 명명되고 있다. 이러한 이름들을 통해, NPR1이 SA 호르몬을 통해 SAR 뿐만 아니라 basal resistance에도 관여한다는 것을 유추해 볼 수 있다(Glazebrook et al. 1996; Shah et al. 1997).

이렇듯, 식물 면역반응에 중요한 역할을 하는 NPR1은 직접적인 DNA 결합부위는 없지만, 전사인자와 결합하여 PR 유전자의 발현을 조절하는 전사 조절인자이다. 병원균에 감염되지 않은 상태에서 NPR1은 NPR1 단백질 서로간에 이황화 결합(S-S disulfide bond)을 형성함으로써 올리고머(oligomer) 형태로 세포질에 존재한다(Mou et al. 2003). 병원균 감염으로 인해 식물 내 SA의 함량이 증가하고, 이는 다시 산화환원 전위 (redox potential)를 변화시킨다. 이러한 변화는 NPR1 올리고머 구조를 환원시켜 NPR1 단백질이 모노머(monomer)로 바뀌게 한다(Mou et al. 2003; Tada et al. 2008; Spoel et al. 2009; Chi et al. 2013). 모노머 형태의 NPR1은 핵으로 이동을 하여, PR1 (pathogenesis-related 1) 유전자의 발현을 유도시켜 전신 획득 저항성(SAR), 즉 생물학적 스트레스 반응에 기여한다(Pajeroska-Mukhtar et al. 2013; Fan and Dong 2002; Fig. 1). 실제로 microarray 분석결과를 보면, SA에 의해 유도되는 defense 관련 유전자들의 90%가 NPR1에 의해 발현이 된다(Blanco et al. 2009). 이렇듯, NPR1은 생물학 스트레스 반응에 SA를 매개로 하는 면역 반응에 핵심적인 역할을 하는 유전자이다.

생화학적으로 NPR1 단백질은 산화환원(redox) 센서(sensor)로써도 기능을 한다(Mou et al. 2003). NPR1 단백질은 이들 단백질끼리의 이황화 결합이 TRX-H3와 Trx-H5에 의하여 환원되기도 하고 GSNO (S-nitrosoglutathione)에 의해 S-nitrosylation이 수반되어 단백질의 구조가 산화환원 포텐셜(redox potential)에 의해 조절된다(Fig. 1). 하지만, NPR1 단백질이 산화된(올리고머), 환원된(모노머) 형태로의 조절을 받는다는 것만이 알려졌을 뿐 아직까지 NPR1 단백질의 올리고머와 모노머의 사이의 구조적인 차이가 가지는 분자 기작은 아직 밝혀지지 않았다(Feechan et al. 2005; Rustérucci et al. 2007; Lindermayr et al. 2010). 즉, NPR1 단백질의 구조에 영향을 주는 신호와 이

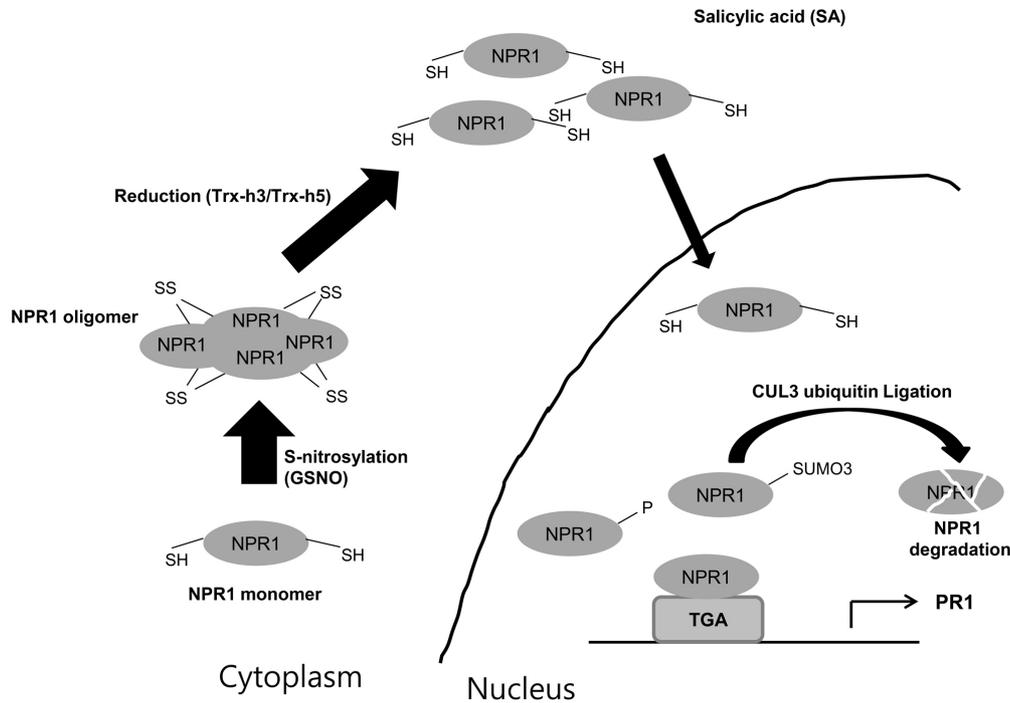


Fig. 1 The regulating mechanism of NPR1 protein

NPR1 proteins are oligomerized by GSNO (S-nitrosoglutathion) activity in the cytosol. The oligomerized structure of NPR1s is reduced and forms a monomer by TRX (Trxh3, Trxh5) through SA hormone signal. This monomeric form of NPR1 can be localized into the nucleus. Subsequently, a transcriptional co-regulator NPR1 interacts with TGA transcription factors and proceeds transcription target genes, such as PR1. Paradoxically, active NPR1 protein has the biochemical characteristic of ubiquitination by CUL3 E3 ligase for protein degradation in the nucleus. This the 26S proteasome dependent protein degradation and target gene expression of NPR1 have been accelerated by the phosphorylation (Ser11, Ser15, Ser55, Ser59) or SUMO3 conjugation (Matika and Loake, 2014, modified)

들 구조로 인한 NPR1의 기능 및 세포 내 단백질 이동에 대한 이해를 돕는 연구가 좀 더 필요하다.

흥미롭게도, 핵에서의 NPR1 단백질이 PR 유전자를 발현시키는 형태가 NPR1 단백질의 활성이 가장 높을 뿐만 아니라, CUL3 E3 ligase에 의해 ubiquitination된 후 26S proteasome에 의해서 분해되는 형태이기도 하다(Mukhtar et al. 2013; Fig. 1). 단백질의 인산화(phosphorylation)와 SUMO3에 의한 SUMOylation과 같은 번역 후 조절(post-translational modification)에 의해서도 NPR1 단백질의 ubiquitination이 가속화된다고(Lindermayr et al. 2010; Saleh et al. 2015; Fig. 1). 이러한 조절이 면밀히 일어남은, NPR1 단백질이 짧은 시간 동안 유지되는 세포 신호전달에 아주 신속하고 강력하게 대처하는 모듈(module)에 대표적이라 할 수 있다.

현재까지의 NPR1의 연구는 모노머 형태의 활성 및 핵에서의 기능에 집중 되어왔다. 이는 NPR1이 전사를 조절하는 인자로써의 특징이 먼저 잘 알려지면서, NPR1이 세포질에서의 기능 연구에 덜 집중되었기 때문일 것이다. 이에, 본 저자들은 NPR1이 스트레스 반응에 빠르고 적절하게 반응하기 위해서 올리고머 형태의 NPR1이 세포질에서 NPR1 단백질의 저장 창고로서의 역할을 하는 것이라 추측한다. 즉, 스트레스에 반응하는 일반적인 모듈에서 먼저 살펴보자면, 스트레스를 인지하여 전사가 유도되고, 그 다음 번역이 일

어난 후 발현된 기능성 단백질이 스트레스에 적절한 반응을 한다. 이러한 모듈에 있어서 소요된 에너지와 시간적인 측면을 고려해 보았을 때, NPR1 단백질이 소량이지만 이미 만들어져 관련 전사가 일어나지 않아도, 핵이 아닌 세포질에서 단백질의 분해 위험이 적은 올리고머 형태로 존재하는 것이라 제안해 본다. 단백질 활성이 큰 구조의 NPR1이 핵에서의 모노머 형태로 더 빠르게 분해가 일어난다는 것이 이 가설을 뒷받침 하고 있다(Lindermayr et al. 2010, Saleh et al. 2015). 덧붙여, NPR1의 올리고머의 기능 및 역할, 그리고 세포질에서의 NPR1의 기능에 대해서는 좀 더 연구가 뒷받침 되어야 하는 것을 관가 해서는 안 될 것이다.

NPR1 homolog들과 SA

npr1 돌연변이 식물체는 야생형의 식물체보다 더 높은 함량의 SA 축적을 보임에도 불구하고, *npr1* 돌연변이 식물체는 SA를 매개로 하는 신호전달 반응이 일어나지 않아 아주 오랜 기간 동안 NPR1 단백질과 SA 수용체간에 상관관계에 대해 많은 속고가 있어왔다. 그러던 중 NPR1이 SA 결합 단백질로써 SA 수용체로서의 가능성이 제시되면서, NPR1을 매개로 한 SA 신호전달 경로를 좀 더 이해할 수 있게 되었다

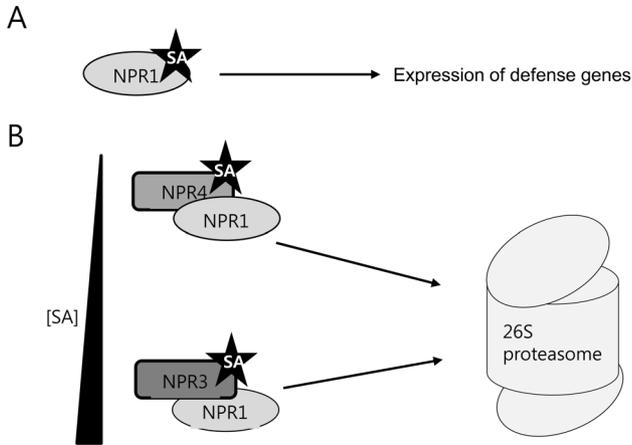


Fig. 2 NPR1 activity and stability by SA

A) NPR1 activity by binding with SA. As NPR1 is a SA receptor, active NPR1 (SA-bound form) induces expression of SA-mediated defense genes. B) NPR1 stability by NPR1 homolog. NPR3 and NPR4, NPR1 homologs are interacted with SA. SA-bounded NPR3 and NPR4 are interacted with NPR1 and regulate NPR1 stability in the high level of SA and in the low level of SA, respectively

(Wu et al. 2012; Manohar et al. 2015).

NPR1의 homolog인 NPR3와 NPR4 단백질들 또한 SA와 결합할 뿐만 아니라, CUL3-based ubiquitin E3 ligase와 NPR1이 복합체를 형성하는데 adaptor로서의 역할도 한다(Fu et al. 2012; Manohar et al. 2015). 낮은 SA 농도에서는 NPR4가, 높은 SA 농도에서는 NPR3가 NPR1 단백질 복합체를 형성하게 하여 NPR1 단백질의 분해를 촉진시켜 NPR1 단백질의 안정화를 결정한다(Manohar et al. 2015; Fig. 2). 이는 NPR3와 NPR4는 전신 획득 저항성(SAR)에 있어서 NPR1과는 반대되는 역할(negative regulator)로의 표현형이 보고되었는데(Shi et al. 2013), 이는 NPR3와 NPR4가 가지는 생화학적, 분자적 성질이 NPR1 단백질의 안정화를 결정하는 역할을 함으로 인해 *npr1*과는 다른 표현형이 설명된다(Shi et al. 2013).

이렇듯 최근, NPR1과 NPR1 homolog인 NPR3, NPR4가 SA 결합 단백질이라는 사실이 밝혀지면서, SA 신호전달에 있어서 NPR1이 생화학적, 분자생물학적으로 핵심인자임을 좀 더 구체적으로 설명할 수 있게 되었다.

SA호르몬과 NPR1의 비생물학적 스트레스(abiotic stress) 반응

SA를 포함하여 식물 생육을 조절하는 호르몬들은 식물이 환경 스트레스에 반응, 적응, 저항하는데 핵심적인 역할을 함이 잘 알려져 있다. 그 중 SA 호르몬과 관련한 스트레스 연구는 대부분 생물학 스트레스(biotic stress)에 집중되어 진행되어 왔었는데, 최근에는 비생물학적 스트레스에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다.

SA 호르몬과 비생물학적 스트레스 반응

SA 호르몬은 페놀류 화합물로 식물이 환경 스트레스에 노출되었을 때 SA 생합성 유전자들의 발현이 증가되고, 이로 인한 SA 함량의 증가는 스트레스 반응에 특히 생물학 스트레스 반응에 저항성을 부여하는 것은 잘 알려져 있다(Wildermuth et al. 2001). 생물학 스트레스에 대한 SA 역할을 이해하고자 한 연구 내용에 비하면 미약하다고 볼 수 있으나, SA는 고염(salinity), 삼투압, 가뭄, 고온, 저온 스트레스와 같은 비생물학적 스트레스에 식물이 노출되었을 때도 스트레스에 대한 저항성을 증가시킨다(Horváth et al. 2007; Khan et al. 2013, 2014; Alavi et al. 2014). 예를 들어, 녹두(*Vigna radiata*)는 전체 광합성 증가와 글라이신베타인(glycinebetaine)의 함량 증가로 인하여, 보리(*Hordeum vulgare*)에서는 루비스코(Rubisco)의 함량과 활성을 높여줌으로써, 고염 스트레스에 저항성을 나타내고(Lee et al. 2014; Khan et al. 2014), 저온(chilling) 스트레스를 받은 레몬(*Citrus limon*) 또한 SA 생합성 효소인 PAL(phenylalanine ammonialyase) 유전자의 활성의 증가와 페놀류와 같은 이차 대사산물의 양이 증가시켜 저항성을 나타낸다(Siboza et al. 2014). 이와 유사하게, 카드뮴(Cd)와 납(Pb)과 같은 중금속 스트레스에 대해서도, 저온(freezing), 고온, 가뭄과 같은 스트레스에도 SA를 전처리 해주었을 때, 식물은 SA 생합성 유전자의 발현이 증가되었으며, 생리학적으로는 저항성 표현형을 보인다(Pawlak-Sprada et al. 2011; Hunter et al. 2013; Fig. 3). 이는 비생물학적 스트레스 동안에도 식물이 적응, 저항 하는데 SA 호르몬이 필수적이라는 것을 의미한다.

비생물학적 스트레스 동안의 NPR1의 기능과 역할

NPR1 유전자는, 2년된 사과나무(*Malus hupehensis*) 묘목에 200 mM NaCl, 10% PEG 6000, 0.01 mM ABA, 그리고 4°C의 저온 스트레스와 같은 대표적인 비생물학적 스트레스의 표본을 처리해 주었을 때 사과의 NPR1(MhNPR1) 유전자 발현이 증가되었다(Zhang et al. 2014)는 것이 유일한 보고일 뿐, 지금까지의 NPR1에 관련한 비생물학적 스트레스 반응에 대한 직접적인 연구는 미미하다. 실제로, 현재까지의 연구는 비생물학적인 스트레스 반응에 NPR1의 분자생물학적으로 기능적인 측면의 이해로의 접근보다는, 비생물학 스트레스 반응 동안에 SA 호르몬의 역할을 이해하고자 하는 목적을 둔 연구에서 SA 신호전달에 필수적인 NPR1 유전자가 이용됨으로써, NPR1 유전자와 관련된 비생물학적 스트레스에 관련된 표현형들이 보고되고 있다. 즉, 이는 NPR1이 SA의 신호전달에 있어서 필수적인 핵심인자로, SA 신호를 전달하는 매개체로서의 역할을 설명하기 위한 절차였던 것이다. SA가 생물학적 스트레스 반응에서만뿐만 아니라 비생물학적 스트레스 반응에서도 중요한 역할을 하는 호르몬으

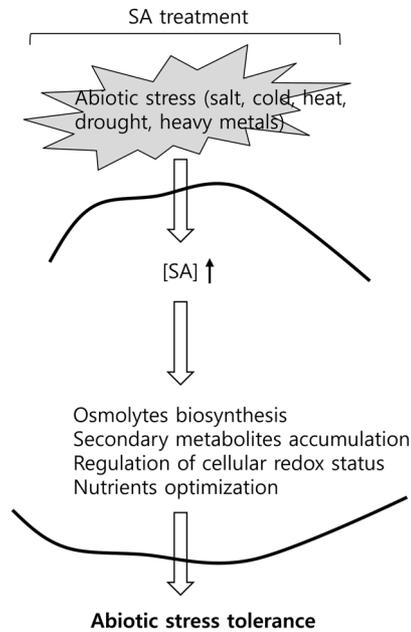


Fig. 3 Plant tolerance module from abiotic stress by SA pre-treatment. SA treatment confers abiotic stress tolerance to the plants. SA treatment before abiotic stress such as salt, cold, heat, drought, and heavy metals boosts SA induction in the cells and induces osmolytes biosynthesis, secondary metabolites accumulation, regulation of cellular redox status, and nutrients optimization for stress tolerance. These biochemical changes contribute to abiotic stress tolerance

로 NPR1을 매개로 하는 SA 신호 기작 연구가 수반되었다고는 하나, 이에 대한 NPR1의 역할 규명은 아직도 미미한 수준이다.

최근, 비생물학적 스트레스 반응에 있어서 주도적인 역할을 함으로 인해 스트레스 호르몬이라고도 불리는 ABA에 의해서도 NPR1 단백질 분해가 촉진된다고 보고가 더해졌다(Ding et al. 2016). 이로 인해, NPR1 단백질이 ABA에 영향을 받음으로 ABA에 의한 비생물학적인 스트레스 반응에 NPR1 역시 알려지지 않은 기능을 수반할 것으로 예상해 볼 수 있다. 이러한 결과들은 NPR1이 직, 간접적으로도 비생물학적 스트레스와 관련이 있음을 시사한다.

고염 스트레스(Salt stress)

고염 스트레스는 식물 세포 내 이온의 균형을 깨는 나트륨(Na⁺)의 독성과 삼투압으로 인한 반응으로 나누어진다(Cheong and Yun, 2007). 하여, 고염 스트레스는 식물의 생장과 발달에 영향을 주어 식물의 형태를 변화시킨다.

앞서 언급된 녹두와 보리의 사례 이외에도, SA를 처리한 밀(*Triticum aestivum*)과 토마토(*Lycopersicon esculentum* cv. Roma) 작물들도 고염 스트레스에 저항성이 증가하는 것으로 관찰되었다(Stevens et al. 2006; Li et al. 2013). 이러한 사례처럼 신호 전달 기작 연구에 용이한 애기장대의 연구 결과를 살펴보면, SA 함량이 낮은 NahG 식물은 고염 스트레스에 민감한 표현형을 보였다(Cao et al. 2009). 이는 SA 호르몬

이 고염 스트레스에 놓인 식물의 저항성을 높이는 데 기여하는 것을 의미한다. 그러나, 식물의 고염 스트레스 반응 기작이 다양한 유전자의 동정으로 많은 연구가 진행되었음에도 불구하고, 그리고 NPR1 단백질의 기능연구가 많은 진전을 보였음에도 불구하고, 고염 스트레스를 포함하여 고염 스트레스 연관된 식물의 SA, NPR1, 혹은 SA/NPR1에 관한 신호 기작 이해는 이제 시작되는 단계이다.

벼의 NPR1(OsNPR1/NH1)은 애기장대 *npr1-1* 돌연변이 식물체에 발현시켰을 때, *npr1-1* 식물체가 가지는 생물학적 환경스트레스 반응 표현형이 회복시켰을 뿐만 아니라, Figure 1에서와 같이 애기장대 NPR1 단백질의 생화학적 특징까지 유사하다(Chern et al. 2001; 2005). 이는 애기장대의 NPR1 (AtNPR1)과 벼의 NPR1(NH1)이 기능적으로 같은 단백질(ortholog)임을 의미할 뿐만 아니라, 애기장대와 벼에서 생물학적인 스트레스반응에 있어서 SA-NPR1을 매개로 하는 SA 신호전달 하위단계는 애기장대와 벼가 유사함을 의미한다. 생화학적으로 유사한 두 NPR1 단백질이지만, 염분과 가뭄 스트레스에 대해 야생형이 100 ~ 90%의 생존율을 나타낼 때 애기장대 NPR1 유전자(AtNPR1)를 발현하는 형질 전환 벼 식물체는 겨우 9 ~ 53% 생존율을 나타냈다. 뿐만 아니라, *rab21*, *salt*, *dip1*과 같은 고염 또는 가뭄 스트레스에 대한 반응 유전자 발현도 늦춰졌고, 그 발현양도 야생형에 비해서 적었다(Quilis et al. 2008). 하지만, 이들 형질전환 식물체들은 애기장대에서 벼의 NPR1 (OsNPR1/NH1)을 발현시켰을 때의 결과에서처럼, 애기장대 NPR1 (AtNPR1)을 발현시킨 벼에서도 SA에 반응하는 유전자들 예를 들어 PR1b, PR5, PR10과 같은 유전자의 발현을 촉진시키고, 곰팡이균과 세균성 병에 있어서 저항성을 나타냈다(Chern et al. 2001; 2005; Quilis et al. 2008). 이는 OsNPR1 (NH1) 유전자가 애기장대 식물에서의 생물학적 스트레스 반응과 같은 기능을 한다는 것을 검증해 보여주는 것일 뿐만 아니라, 애기장대의 NPR1이 벼에서도 SA 신호전달에 있어서 긍정적인(positive) 역할을 한다는 것을 의미한다. 그러나, 이때의 SA 신호는 비생물학적인 염분 스트레스 반응에 부정적인(negative) 역할을 함을 의미한다. 그러나, 애기장대 *npr1-5* 돌연변이 식물체를 이용한 연구에서는 염분(salt)와 산화 스트레스에 대해 야생형보다 민감한 표현형을 보였다(Jayakannan et al. 2015). 실제로, 염분에 의해 유도되는 ROS(reactive oxygen species) 양은 *npr1-5*가 적었으나, 잎과 뿌리에서 야생형보다 높은 농도의 Na⁺과 낮은 농도의 K⁺를 가짐으로써 고염 스트레스에 더 민감한 표현형을 보였다(Jayakannan et al. 2015). 이는 NPR1을 통하여 SA 신호가 뿌리로부터 유입되는 Na⁺의 양을 조절하고 K⁺의 손실을 막는데 기여한다고 볼 수 있다.

이처럼, 생화학적으로는 유사한 두 NPR1 유전자 (OsNPR1과 AtNPR1)가 고염 스트레스 반응에 있어서는 벼와 애기장대 각각에서 서로 다른 반응을 보였다. 이는 고염 스트레스에 반응에 있어서 1)NPR1과 SA를 매개로 하는 NPR1의 하위

단계를 조절하는 SA 신호전달이 식물간의 차이로 인한 즉, 단자엽 식물인 벼와 쌍자엽 식물인 애기장대가 다르기 때문인지, 2) AtNPR1이 벼에서는 애기장대와는 다른 경로로 다른 형태의 파트너 단백질을 가짐으로써, 이들 단백질 복합체들간의 활성(activity)의 차이로 인해 나타나는 것인지, 각 식물체 간들의 NPR1의 고염 스트레스 반응에 신호전달에 대한 이해가 더 필요함을 시사한다. 뿐만 아니라, NPR1을 매개로 하는 생물학적인 스트레스반응과 비생물학적 스트레스 반응은 다를 수 있음도 시사하고 있다.

삼투압 스트레스(Osmotic stress)

삼투압 스트레스는 세포 내 유기산(organic acid), 탄수화물, 무기이온(inorganic ions)과 같은 용질(solutes)의 농도 증가로 인하여 삼투 포텐셜(osmotic potential)을 떨어뜨려 식물의 생장과 발달을 저해시킨다. 반면, 오스모라이트(Osmolytes)는 높은 용해도(solubility)를 가지고서 식물체의 기본 대사과정은 저해하지 않고 식물체가 스트레스에 놓였을 때, 팽압을 유지하는데 기능을 하는 물질을 일컫는 용어로, 프롤린(Proline), 글라이신베타인(Glycinebetaine)이 대표적이다. 일반적으로 삼투압 스트레스 동안에는 오스모라이트에 의한 삼투 천칭(osmotic balance)이 유지됨으로 저항성을 이해되고 있다(Slama et al. 2015). 그러나 오스모라이트의 생합성 및 축적은 고염, 산화, 고온, 저온과 같은 비생물학적 스트레스는 물론 생물학적 스트레스 동안도 일어나며, 이는 식물체가 과도한 스트레스로부터 식물체 자신을 보호하고, 이차적으로 발생하는 삼투압 스트레스에 저항하기 위한 반응이다. 밀(*Triticum aestivum* L.) 품종간에 가뭄스트레스에 대한 밀 생장의 차이를 알아보고자 수행한 실험에서 SA를 처리한 실험군에서 식물의 생장이 더 좋고 가뭄 스트레스에 저항성의 표현형이 관찰되었는데, 이는 오스모라이트 함량 증가와 관련이 있었다(Loutfy et al. 2012). 즉, SA가 오스모라이트의 생합성을 유도하며, 삼투압 스트레스에 저항성을 높여준다는 것을 의미한다.

ProDH(proline dehydrogenase)는 프롤린을 분해하는 효소로 프롤린 함량을 감소시키는 역할을 한다. 식물병리 과민 반응(hypersensitive response; HR)은 식물의 면역반응으로 식물의 대표적인 저항성 표현형이다. 흥미롭게도 애기장대를 이용한 실험에서 비병원성 박테리아 균(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (AvrRpm1))에 의해 유도된 HR의 초기단계 즉, 6시간때에는 ProDH의 유전자가 활성화되어 프롤린의 축적이 일어나지 않는데, 이러한 반응이 *sid2-2*, *npr1-1* 돌연변이 식물체에서는 일어나지 않았다(Cecchini et al. 2011). 이는 HR을 유도함에 있어서 필요한 프롤린 대사(metabolism)에 SA 호르몬과 NPR1 유전자가 필요함을 의미한다. 이로써 직접적인 삼투압 스트레스에 대한 NPR1 유전자의 역할을 논하기는 어려우나, 삼투압 스트레스에 SA를

매개로 하는 NPR1 유전자가 긍정적인(positive) 방향으로 역할을 할 가능성이 있음을 의미한다. 하지만, *npr1-1* 식물체가 300 mM mannitol의 삼투압 스트레스를 유도한 조건의 실험에서 씨앗의 발아는 물론 생육상태가 야생형과 차이가 없음을 관찰되었다(Brosche and Jangasjarvi, 2012). 이는 직접적으로 유도된 삼투압 스트레스에는 NPR1이 관여하지 않음을 의미한다. Cecchini et al(2011)의 연구에서처럼 병원균의 감염 같은 스트레스에 의해 이차적으로 유도된 삼투압 스트레스에 대한 반응을 이해하기 위해서 NPR1 단백질의 기능에 SA의 역할 연구가 더 필요하다.

가뭄 스트레스(Drought stress)

가뭄 스트레스는 고염 스트레스와 유사한 면이 많은 비생물학적 스트레스로 작물의 수확량을 감소시키는 대표적인 비생물학적 스트레스 중 하나이다(Godfray et al. 2010). 일반적으로 식물이 가뭄 스트레스를 극복하고 가뭄 스트레스에 노출되지 않기 위해서는 적절하고 지속적인 물 공급이 필수적이다. 그러나 가뭄 스트레스를 극복하기 위해 식물은 형태학적으로는 뿌리가 흙으로부터 수분을 잘 흡수할 수 있게 뿌리발달이 일어나며, 지상부 조직은 기공의 조절을 통해 호흡을 통한 물의 소비를 감소시킨다.

현재까지 NPR1을 이용한 가뭄 스트레스에 대한 직접적인 사례연구는 없다. 하여, NPR1과 가뭄 스트레스에 대한 이해에 접근하기에 앞서, SA와 가뭄 스트레스에 관련한 이해를 위해 먼저 살펴보고자 한다. 먼저, 보리의 경우 가뭄 스트레스 동안 뿌리에서는 SA가 약 2배 증가하고, 이로 인해 PR1과 PR2 유전자의 발현도 증가했다(Bandurska and Storinski, 2005). SA를 전 처리 후 가뭄 스트레스에 노출시킨 옥수수(*Zea mays*)도 저항성 표현형을 보였다(Saruhan et al. 2012). 식물의 잎에서는 SA가 증가하게 되면 기공이 닫히게 되는데(Dong et al. 2001), *cpr5*, *acd6*, *siz1*과 같이 식물 체내에 SA를 많이 축적하고 있는 식물들은 기공이 닫혀있음으로 인해 가뭄 스트레스에 저항성을 보인다(Miura et al. 2013; Okuma et al. 2014). 이러한 SA의 축적이 물 부족으로 인한 스트레스에 식물이 가지는 보호 반응일 일 것이라 여겨지고는 있으나, 흥미롭게도 실제 낮은 농도의 SA 농도의 증가는 가뭄에 저항성을 부여하지만, 높은 농도의 SA 전처리는 가뭄에 저항성을 감소시켰다(Borsani et al. 2001). 이러한 결과들로 보아, SA가 가뭄에 저항성 부여한다고 결론을 내리기에는 아직 연구가 더 필요하다.

앞서 언급된 것처럼, NPR1, NPR3, NPR4 단백질들이 SA 결합단백질로(Wu et al. 2012; Manohar et al. 2015; Fu et al. 2012), SA 농도에 따른 가뭄 스트레스에 대한 표현형이 달라질 수 있음이 시사된 선행 연구를 고려해 보았을 때, NPR1 단백질이 각기 낮은 농도의 SA에서는 NPR4와 높은 농도에서는 NPR3와 결합하여 단백질의 활성이 조절되어, 가뭄 스트레스 반응에 관여 할 수도 있다고 추측해 볼 수 있다. 즉,

NPR1이 SA 수용체 일뿐만 아니라 SA의 주된 타겟으로, 식물이 가뭄 스트레스에 반응, 저항하는 SA의 이해는 NPR1의 역할을 규명함으로써 급격히 진전이 될 수 있음을 기대한다. 뿐만 아니라, 이러한 연구를 통해 가뭄과 SA에 관련한 연구가 활발히 진행될 것으로 예상된다. 즉, 가뭄 스트레스에 반응하는 NPR1의 역할 이해는 식물이 가뭄 스트레스 동안 SA의 기작을 이해하는 부분에 있어서 필수적인 것임을 조심스레 제안해 본다. 물론 이에 대해서는 SA를 매개로 한 가뭄 스트레스반응에 NPR1이외에 다른 수용체가 있을 수 있음을 무시해서는 안 될 것이다.

고온 스트레스(Heat stress; Thermotolerance)

고온 스트레스 또한 식물의 생육과 발달에 영향을 미치는 비생물학적 스트레스 요소이다. SA 식물호르몬은 고온(heat shock) 스트레스로부터 식물을 보호하는 데 필요하다고 알려져 있다(Clarke et al. 2004; Shi et al. 2006). 그러나, *npr1* 돌연변이 식물체는 야생형 식물체보다는 약 2배 더 높은 SA 함량을 가지고 있음에도 불구하고 야생형보다 고온에 대한 민감한 표현형을 보임이 관찰되었다(Clarke et al. 2004). 뿐만 아니라, 고온 스트레스에 노출되어 식물의 생장이 회복되는 과정에서 *npr1* 돌연변이 식물체는 야생형 보다 덜 회복됨을 보인 반면 *NahG* 식물체보다는 좀 더 회복됨을 보였다(Clarke et al. 2004) 이는 SA/NPR1에 의해 매개되는 신호전달이 고온 스트레스에 저항성을 보이는데 필요함을 의미한다. 그러나 고온에 의해 유도되는 SA의 증가는 SA의 대사과정에 의한 것인지 신호전달에 의한 것인지 아직 명확하지는 않다. 이렇듯, 고온 스트레스에 의해 유도되는 SA와 병원균에 저항성을 부여하는 SA 신호전달 과정과의 연관성 그리고 NPR1과의 관련성에 관한 연구는 아직 미흡하다.

조금 더 구체적이고 상세한 기작의 이해가 필요하지만 높은 농도의 CO₂ 양은 식물을 고온 스트레스로부터 보호한다고 알려져 있다(Mishra et al. 2008; Madan et al. 2012). 애기장대 *npr1* 돌연변이 식물(*npr1-1*과 *npr1-5*)들 또한 높은 농도의 CO₂ 존재하에서 고온 스트레스에 식물이 노출 되었을 때, 저항성 표현형을 보였다. 하지만, 이는 SA 호르몬에 의한 경로이기는 하나 NPR1에 의한 것이 아님이 보고되었다(Ahamed et al. 2015). 이러한 결과는 SA을 통한 고온 스트레스반응에 NPR1이 필요할 수도 필요하지 않을 수도 있음을 시사한다.

브라시노스테로이드(brassinosteroids; BRs)은 식물 유일의 스테로이드성 호르몬으로 다른 식물 호르몬들과 마찬가지로 식물의 생장을 촉진시키는 역할을 한다. Divi et al. (2010) 연구에 따르면, EBR (24-epibrassinolide)를 처리했을 때 *npr1-1* 돌연변이 식물체가 야생형과는 달리 식물의 basal thermotolerance 표현형을 나타내지 못했다. Basal thermotolerance는 식물이 일반적인 생육 온도보다는 높은 온도에서 적응하는 과정이 없이 고온 스트레스에 노출 되었을 때, 고온에 저항성을 나

타내는 표현형을 일컫는 용어이다. 이러한 *npr1-1*의 표현형은 NPR1이 BR에 의해 매개되는 basal thermotolerance에서도 필요한 인자라는 것을 의미한다.

이러한 결과들은 고온스트레스 반응, 저항하는데 있어서 SA 호르몬이 필요하나, 고온 스트레스에 반응하는 NPR1은 SA와는 독립적으로 BR과 연결되어 NPR1이 고온 스트레스 반응이 필요함을 의미한다.

저온 스트레스(Cold stress)

식물의 스트레스 반응에 SA를 통한 경로는 직/간접적으로 NPR1 역할에 영향을 준다는 것은 잘 알려져 있다. SA에 의한 저온스트레스 반응에 대한 연구를 먼저 살펴보자면, SA를 처리한 옥수수, 벼, 밀, 콩, 바나나와 같은 작물에서는 저온 스트레스에 대한 저항성이 증가한다(Janda et al. 1999; Kang and Saltveit, 2002; Kang et al. 2003). 애기장대 식물은 5°C 저온 스트레스에서는 저항성을 보이지만, 생육에는 피해를 받아 식물의 크기가 작아진 표현형을 가진다(Scott et al. 2004). 이러한 저항성 표현형이 나타내는 SA에 근거한 생리화학적 활성 연구를 살펴보면, SA hydroxylase인 *NahG*를 발현시킨 애기장대 식물체가 Col-0 야생형 식물체보다 5°C 저온 스트레스에 노출되었을 때, 좀 더 큰 세포크기를 가짐으로 인해서 식물체 크기가 조금 더 크고 지상부 조직 부분이 더 튼튼한 표현형을 나타냈다(Scott et al. 2004). 똑같은 조건에서의 *npr1* 돌연변이 식물체의 표현형은 야생형 Col-0의 120%를, SA 축적이 적은 *NahG* 식물체의 61% 정도의 지상부 생육상태를 가졌다. 저온 스트레스 동안 *npr1* 돌연변이 식물체는 야생형 보다 7배는 더 많은 양의 SA가 축적이 되는 것으로 보아, 이는 저온 스트레스동안 식물의 생육을 저해시키는데 SA만이 아닌 또 다른 인자가 있음을 보여준다(Clarke et al. 2000; Clarke et al. 2004). 이는 많은 양의 SA를 축적하고 있는 *cpr1* 돌연변이 식물체가 저온 스트레스에 민감한 표현형을 보인 것이 이러한 가능성을 뒷받침 한다(Scott et al. 2004). 결론적으로 저온 스트레스에 식물이 적응, 저항 반응을 유도함에 있어서 SA 호르몬의 하위단계에서 NPR1을 통하지 않는 경로도 있음을 시사한다. 뿐만 아니라, 이는 NPR1이 저온 스트레스 반응에 부정적인 역할을 하는 인자(negative regulator)로써 직접적으로 관여한다는 것을 의미하기도 한다.

산화 스트레스(Oxidative stress)

식물체가 직접적으로 산화스트레스 환경에 놓이기도 하지만, 생물학적 스트레스는 물론 산화스트레스가 아닌 비생물학적 스트레스 또한 이차적으로 산화스트레스를 유도시킨다. 즉, 식물체는 산화스트레스에 쉽게 노출되는데, 일반적으로 산화스트레스는 생화학적 측면에서 ROS의 양의 증가로 설명할 수 있다. 세포 내 낮은 농도의 활성 산소

(ROS)는 스트레스 반응에 신호로 작용하기도 하지만, 높은 농도에서는 세포사멸을 일으키는 위협적인 요소이기도 하다(Potters et al. 2010). 현재까지의 연구 결과로는 낮은 농도와 높은 농도에 따른 활성산소의 역할차이는 이해되고 있으나, 안타깝게도 낮은 농도와 높은 농도의 경계가 불분명하다. 산화스트레스에 대한 NPR1의 역할 연구를 살펴보면, 애기장대 NPR1(AtNPR1)을 발현하는 형질전환 담배식물체에 산화스트레스를 유도하는 MV(methyl viologen)를 처리해 주었을 때, PR1, PR2, PR5를 비롯한 APX(ascorbate peroxidase)와 SOD($\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ superoxide dismutase)의 발현으로 산화스트레스에서도 저항성을 부여함이 관찰되었다(Srinivasan et al. 2009). 이 연구에서는 실제 ROS 양 또는 항산화제의 활성이 측정되지는 않았지만, NPR1이 산화스트레스에도 기능을 함을 시사하고 있다. 실제로, *npr1-5* 돌연변이 식물이 야생형보다 산화 스트레스에 더 민감한 표현형 현을 보였다(Jayakannan et al. 2015).

생화학적으로 NPR1 단백질이 산화환원 조절에 있어서 Trx(thioredoxin)을 통해 산화환원에 따른 NPR1의 구조가 달라짐은 잘 알려져 있는 반면(Fig. 1), 일반적으로 세포의 산화환원 상태를 보여주는 표식인자(marker)와 같은 역할을 하는 글루타치온(Glutathione)은 NPR1을 매개로 한 스트레스반응에 관련한 연구는 미미하다. 흥미롭게도, Han et al. (2013)은 glutathione이 SA 신호전달에 있어서 세포 내 H_2O_2 농도를 높여 SA의 신호전달을 활성화 시키는데, 이는 NPR1을 통한 경로뿐만 아니라 NPR1과는 독립적인 경로를 모두 이용한다고 보고하였다. NO(Nitric Oxide) 또한 세포 내 중요한 신호전달 물질로, 식물 면역반응에 있어서 중요한 기능을 한다는 것은 잘 알려져 있지만, 이와 관련한 조절 기작이나 신호전달 경로는 아직 명확하지 않다. 최근, NO는 glutathione의 산화환원을 바꿔 glutathione의 농도를 높이는데, 이 과정에서 glutathione이 SA 축적과 NPR1에 의한 유전자 발현에 영향을 준다는 연구결과가 보고되었다(Kovacs et al. 2015). 또한, NO donor인 GSNO(S-nitroglutathione)가 NPR1 단백질을 핵으로 집중시키는데 필요했다(Kovacs et al. 2015). 이는 SA의 축적으로 행해진 NO와 glutathione사이의 신호전달 및 조절에 있어서 NPR1이 중요한 매개체 역할을 한다는 것을 의미한다. Han et al(2013)의 연구에서 주장한 바 있는 glutathione의 반응이 NPR1을 매개로 한 경로는 NO에 의한 기작에 의한 것일 수도 있음을 추론해 볼 수 있다.

중금속 스트레스(Heavy Metal stress)

카드뮴(Cd), 알루미늄(Al), 구리(Cu), 철(Fe) 등과 같은 중금속들도 과량의 경우 식물에 독성으로 작용하여 이 또한 식물의 생장 발달, 뿐만 아니라, 작물의 생산량에 영향을 미치는 요소이다(DalCorso et al. 2014; Anjum et al. 2015). SA 처리는 오이와 담배에 구리(Cu) 독성에 저항성을 유도한다는 연구를 시작으로(Strobel and Kuc, 1995), 벼, 옥수수, 콩, 보리에

납(Pb)이나 카드뮴(Cd) 독성에 SA 처리는 물의 항산화 시스템을 조절을 통해, 세포막 손상을 감소시켜 작물의 저항성을 높인다는 보고가 있다(Chen et al. 2007; Krantev et al. 2008; Szalai et al. 2013; Drazic and Mihailovic, 2005). 이렇듯, SA는 중금속 독성 저항성을 높이는 데 기여할 뿐만 아니라, 철(Fe) 부족으로 인한 땅콩(*Arachis hypogaea*) 식물 잎의 백화현상도 감소시키는데 필요하다는 보고(Kong et al. 2014)의 내용으로 보아, SA 호르몬은 중금속을 매개로 한 신호전달에 중요한 역할을 하는 인자임을 알 수 있다.

흥미롭게도 NPR1은 SA와 결합하는 데 있어서 구리(Cu^{2+})를 필요로 한다(Wu et al. 2012). 이 때, 구리이온이 NPR1의 Cys521과 Cys529잔기와 SA사이 다리를 형성하여 결합을 이루고, SA와 결합한 NPR1은 전사를 활성화 시킬 수 있는 구조로 변하여, 전사 활성을 조절할 것으로 예상하고 있다. 하지만, 구리이온의 독성에 관련하여 NPR1의 생리학적 표현형은 아직 보고된 바가 없다. 다만, 알루미늄(Al)에 대해서는 *npr1-1* 돌연변이 식물이 저항성을 보였는데, 이는 NPR1 단백질에 의해 조절되는 항산화제의 활성에 의한 것으로 이해하고 있다(Zhang et al. 2014).

결론

NPR1은 세포 내 SA 신호를 인지하여 SA 신호전달에 있어서 핵심적인 역할을 하는 단백질이다. 뿐만 아니라, NPR1을 매개로 하는 SA 신호는 세포 내 산화환원 상태(redox status)과 연결되어 이해하는 것이 중요하다고 여겨지고 있다. 즉, 세포 내 산화환원 준위는 단백질의 구조와 기능에 영향을 주는데, NPR1은 그에 대표적인 단백질인 것이다(Sapoel et al. 2003; Koornneef et al. 2008). 실제 산화 환원 준위(redox status)에 따른 NPR1 기능연구가 진행되고 있다. NPR1의 redox status는 glutathione level과 관련이 되어 이들의 산화(GSSG), 환원(GSH)를 평형상태로 유지하고 있다. Mou et al. (2003)의 보고에 의하면 15:1의 GSH/GSSG의 비율은 NPR1은 모노머를 유지하지만, 이보다 낮은 비율인 7.5:1은 monomeric form의 산화된 형태로 전환시킨다. 하지만, 이러한 생화학적 구조 차이는 밝혀졌지만, 이와 관련한 NPR1의 구조적인 기능과 그 역할에 대한 연구는 미비하다. 이렇듯, SA 결합과 산화환원에 근거한 NPR1 단백질의 구조의 이해와 이들 구조를 통한 NPR1 단백질의 활성도 및 역할, 그리고 이것이 미치는 생리학적, 생물학적인 영향에 대해서는 더욱 더 연구가 필요하다.

덧붙여, 앞서 본문 내용에서와 같이 SA가 비생물학적 스트레스에 미치는 영향을 연구하는 과정에서 이와 관련한 NPR1 유전자의 기능연구가 시작이 되어 진전을 보이고 있다. 이렇듯, 식물의 비생물학적 스트레스 반응 있어서, SA/NPR1의 역할이 생물학적 표현형에 때로는 긍정적인(positive)

Table 1 The Biological Function of NPR1 and NPR1 homologs

Biotic stress (pathogen resistance)		AtNPR1(+)	Delaney et al. 1995; Glazebrook et al. 1996; Shah et al. 1997	
		OsNPR1(+)	Chern et al. 2001; Chern et al. 2005; Yuan et al. 2007	
		GmNPR1-1(+)	Sandhu et al. 2009	
		GmNPR1-2(+)	Sandhu et al. 2009	
		GhNPR1(+)	Zhong et al. 2015	
		MhNPR1(+)	Zhang et al. 2012	
		NPR3(-)	Shi et al. 2013	
Abiotic stress		NPR4(-)	Shi et al. 2013	
		salt	AtNPR1(+)	Jayakannan et al. 2015
			MhNPR1(+)	Zhang et al. 2014
		osmotic pressure	AtNPR1(-)	Quilis et al. 2008
			MhNPR1(+)	Zhang et al. 2014
		drought	AtNPR1(+)	Cecchini et al. 2011
		high temperature	AtNPR1(+)	Clarke et al. 2004; Divi et al. 2010
low temperature	AtNPR1(+)	Scott et al. 2004		
oxidation	AtNPR1(+)	Han et al. 2013; Jayakannan et al. 2015; Srinivasan et al. 2009		
heavy metal (Al)	AtNPR1(-)	Zhang et al. 2014		

+, positive response, -, negative response, Al; Aluminum, At; Arabidopsis thaliana, Os; Oryzae sativa, Gm; Glycine max, Gh; Gladiolus hybridus, Mh; Malus hupehensis

방향으로 때로는 부정적인(negative) 방향으로의 역할을 한다. 뿐만 아니라 벼와 애기장대 NPR1의 사례처럼 생물체간의 생화학적 분자생물학적 기능은 유사하다 할지라도 이들이 나타내는 비생물학적 스트레스 반응의 생물학적 기능은 달리 보이기도 한다. 본문에서 언급된 애기장대와 벼에서의 NPR1 이외에 사과(Malus hupehensis)의 NPR1 (MhNPR1)를 담배 식물에 발현시켰을 때 야생형보다 형질전환 담배식물체가 고염과 삼투압 스트레스에 저항성 유전자를 더 많이 발현시켰을 뿐만 아니라, 저항성을 나타내는 표현형을 보였다(Zhang et al. 2012; 2014). 애기장대 유전자를 벼에 발현시킨 이종간(heterologous) 발현에서 NPR1 단백질의 비슷하면서도 다른 표현형들이 관찰된 반면, MhNPR1의 담배에서의 발현과 같은 이종간 발현의 사례에서는 생물학적 스트레스 반응에서뿐만 아니라 비생물학적 스트레스 반응에서도 유사한 표현형이 관찰되었다(Zhang et al. 2014). 이는 비생물학적 스트레스 반응이 SA와 관련이 있다고 하더라도, NPR1의 관련 유무에 대하여, 그리고 NPR1 유전자의 개별적인 접근의 이해가 필요하다는 것을 시사한다. 뿐만 아니라, NPR1의 기능연구에 있어서 SA가 NPR1의 상위단계의 신호라 하더라도 SA가 유일하게 NPR1의 기능에 영향을 미치는 인자가 아니기 때문에, 우리는 NPR1 하나의 인자만 하더라도 다양한 경로의 가능성을 생각해 보아야만 한다. 이에 본 리뷰에서는 제한적인 부분이라 할지라도, 본문에 언급한 NPR1과 NPR1 homolog들에 관련한 생물학적, 비생물학적 스트레스 반응을 정리해보았다(Table 1). 다양한 사례 연구들을 통해

서 NPR1이 비생물학적 스트레스 반응에 직/간접적으로 관여하는 것이 입증되고 있으니만큼, NPR1의 생물학적 스트레스에서의 연구 결과처럼, 앞으로 비생물학적 스트레스 반응에서 NPR1의 기능을 밝히는데 많은 진전을 보일 것으로 기대한다.

사 사

This work was supported in part by the research fund of the National Research Foundation of Korea (NRF) (No. 2015R1C1A2A01054562).

References

Alavi SMN, Arvin MJ, Kalantari KM (2014). Salicylic acid and nitric oxide alleviate osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *J. Plant Interac.* 9:683-688

Bandurska H, Stroinski A (2005) The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. *Acta Physiol. Plant* 27: 379-386

Borsani O, Valpuesta V, Botella MA (2001) Evidence for a salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. *Plant Physiol.* 126: 1024-1030

Cao H, Bowling SA, Gordon AS, Dong X (1994) Characterization of an Arabidopsis Mutant That Is Nonresponsive to Inducers

- of Systemic Acquired Resistance. *Plant Cell* 6:1583-1592
- Cao H, Glazebrook J, Clarke JD, Volko S, Dong X (1997) The Arabidopsis NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. *Cell* 88:57-63
- Cao Y, Zhang ZW, Xue L W, Du JB, Shang J, Xu F, Yuan S, Lin HH (2009) Lack of salicylic acid in Arabidopsis protects plants against moderate salt stress. *Z. Naturforsch. C* 64: 231-238
- Cecchini NM, Monteoliva MI, Alvarez ME (2011) Proline dehydrogenase contributes to pathogen defense in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 155:1947-1959
- Chen J, Zhu C, Li L P, Sun Z Y (2007) Effects of exogenous salicylic acid on growth and H₂O₂-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress. *J. Environ. Sci.* 19:44-49
- Cheong MS, Yun DJ (2007) Salt-stress signaling. *J Plant Biol.* 50:148-155
- Chern M, Fitzgerald HA, Canlas PE, Navarre DA, Ronald PC (2005) Overexpression of a rice NPR1 homolog leads to constitutive activation of defense response and hypersensitivity to light. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 18:511-520
- Chern MS, Fitzgerald HA, Yadav RC, Canlas PE, Dong X, Ronald PC (2001) Evidence for a disease-resistance pathway in rice similar to the NPR1-mediated signaling pathway in Arabidopsis. *Plant J.* 27:101-113
- Chi YH, Paeng SK, Kim MJ, Hwang GY, Melencion SM, Oh HT, Lee SY (2013) Redox-dependent functional switching of plant proteins accompanying with their structural changes. *Front Plant Sci* 4:277
- Clarke JD, Volko SM, Ledford H, Ausubel FM, Dong XN (2000) Roles of salicylic acid, jasmonic acid, and ethylene in cpr-induced resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* 12:2175-2190
- Clarke SM, Mur LA, Wood JE, Scott IM (2004) Salicylic acid dependent signaling promotes basal thermotolerance but is not essential for acquired thermotolerance in Arabidopsis thaliana. *Plant J.* 38:432-447
- DalCorso G, Manara A, Piasentin S, Furini A (2014) Nutrient metal elements in plants. *Metallomics.* 6:1770-1788
- Delaney TP, Friedrich L, Ryals JA (1995) Arabidopsis signal transduction mutant defective in chemically and biologically induced disease resistance. 92:6602-6606
- Ding Y, Dommal M, Mou Z (2016) Abscisic acid promotes proteasome-mediated degradation of the transcription coactivator NPR1 in Arabidopsis thaliana. *Plant J.* 86:20-34
- Divi UK, Rahman T, Krishna P (2010) Brassinosteroid-mediated stress tolerance in Arabidopsis shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways. *BMC Plant Biol.* 10:151
- Dong FC, Wang PT, Song CP (2001) The role of hydrogen peroxide in salicylic acid-induced stomatal closure in Vicia faba guard cells. *Plant Cell* 21:972-984
- Drazic G, Mihailovic N (2005) Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. *Plant Sci* 168:511-517
- Fan W, Dong X (2002) In vivo interaction between NPR1 and transcription factor TGA2 leads to salicylic acid-mediated gene activation in Arabidopsis. *Plant Cell* 14:1377-1389
- Fu ZQ, Yan S, Saleh A, Wang W, Ruble J, Oka N, Mohan R, Spoel SH, Tada Y, Zheng N, Dong X (2012) NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* 486:228-232
- Glazebrook J, Rogers EE, Ausubel FM (1996) Isolation of Arabidopsis mutant with enhanced disease susceptibility by directing screening. *Genetics* 143:973-982
- Godfray HC, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, Pretty J, Robinson S, Thomas SM, Toulmin C (2010) Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* 327:812-818
- Han Y, Chaouch S, Mhamdi A, Queval G, Zechmann B, Notor G (2013) Functional analysis of Arabidopsis mutants points to novel roles for glutathione in coupling H₂O₂ to activation of salicylic acid accumulation and signaling. *Antioxid Redox Signal* 18:2016-2021
- Horváth E, Pál M, Szalai G, Páldi E, and Janda T (2007). Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biol. Plant.* 51:480-487
- Huot B, Yao J, Montgomery BL, He SY (2014) Growth-defense tradeoffs in plants: A balancing act to optimize fitness. *Mol. Plant* 7:1267-1287
- Janda T, Szalai G, Tari I, Paldi E (1999) Hydroponic treatment with salicylic acid decrease the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta* 208:175-180
- Jayakannan M, Bose J, Babourina O, Shabala S, Massart A, Poschenrieder C, Rengel Z (2015) The NPR1-dependent salicylic acid signalling pathway is pivotal for enhanced salt and oxidative stress tolerance in Arabidopsis. *J Exp Bot.* 66:1865-1875
- Kang GZ, Wang ZX, Sun GC (2003) Participation of H₂O₂ in enhancement of cold chilling by salicylic acid in banana seedlings. *Acta Bot Sin* 45:567-573
- Kang HM, Saltveit ME (2002) Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiol Plant* 115:571-576
- Khan MIR, Asgher M, Khan NA (2014). Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiol. Biochem.* 80:67-74
- Khan MIR, Iqbal N, Masood A, Per S, Khan NA (2013) Salicylic acid alleviates adverse effects of heat stress on photosynthesis through changes in proline production and ethylene formation. *Plant Signal. Behav.* 8:e26374
- Kong J, Dong Y, Xu L, Liu S, Bai X (2014) Effects of foliar application of salicylic acid and nitric oxide in alleviating iron deficiency induced chlorosis of *Arachis hypogaea* L. *Bot. Stud.* 55:9
- Koornneef A, Leon-Reyes A, Ritsema T, Verhage A, Den Otter FC, Van Loon LC, Pieterse CM (2008) Kinetics of salicylate-mediated suppression of jasmonate signaling reveal a role for

- redox modulation. *Plant Physiol.* 147:1358-1368
- Kovacs Durner J, Lindermayr C (2015) Crosstalk between nitric oxide and glutathione is required for NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES 1 (NPR1)-dependent defense signaling in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* 208: 860-872
- Krantev A, Yordanova R, Janda T, Szalai G, Popova L (2008) Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *J. Plant Physiol.* 165: 920–931
- Lee SY, Damodaran PN, Roh KS (2014). Influence of salicylic acid on rubisco and rubisco activase in tobacco plant grown under sodium chloride *in vitro*. *Saudi J. Biol. Sci.* 21:417–426
- Li G, Peng X, Wei L, Kang G (2013) Salicylic acid increases the contents of glutathione and ascorbate and temporally regulates the related gene expression in salt-stressed wheat seedlings. *Gene* 529:321-325
- Lindermayr C, Sell S, Müller B, Leister D, Durner J (2010) Redox regulation of the NPR1-TGA1 system of *Arabidopsis thaliana* by nitric oxide. *Plant Cell* 22:2894-2907
- Loutfy N, El-Tayeb MA, Hassanen AM, Moustafa MF, Sakuma Y, Inouhe M (2012) Changes in the water status and osmotic solute contents in response to drought and salicylic acid treatments in four different cultivars of wheat (*Triticum aestivum*). *J Plant Res.* 125:173-84
- Madan P, Jagadish SV, Craufurd PQ, Fitzgerald M, Lafarge T, Wheeler TR (2012) Effect of elevated CO₂ and high temperature on seed-set and grain quality of rice. *J Exp Bot.* 63:3843-3852
- Matika and Loake (2014) Redox regulation in plant immune function *Antioxid. Redox. Signal* 21:1373-1388
- Mishra S, Heckathorn SA, Barua D, Wang D, Joshi P, Hamilton Iii EW, Frantz J (2008) Interactive effects of elevated CO₂ and ozone on leaf thermotolerance in field-grown *Glycine max*. *J Integr Plant Biol.* 50:1396-1405
- Miura K, Okamoto H, Okuma E, Shiba H, Kamada H, Hasegawa PM, Murata Y (2013) SIZ1 deficiency causes reduced stomatal aperture and enhanced drought tolerance via controlling salicylic acid-induced accumulation of reactive oxygen species in *Arabidopsis*. *Plant J.* 73:91-104
- Mou Z, Fan W, Dong X (2003) Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. *Cell* 113:935-944
- Okuma E, Nozawa R, Murata Y, Miura K (2014) *Plant Signal Behav.* 9:e28085
- Pajerowska-Mukhtar KM, Emerine DK, Mukhtar MS (2013) Tell me more: roles of NPRs in plant immunity. *Trends Plant Sci* 18:402-411
- Pawlak-Sprada S, Arasimowicz-Jelonek M, Podgórska M, and Deckert J (2011). Activation of phenylpropanoid pathway in legume plants exposed to heavy metals. Part I. Effects of cadmium and lead on phenylalanine ammonia-lyase gene expression, enzyme activity and lignin content. *Acta Biochim. Pol.* 58, 211-216
- Potters G, Horemans N, Jansen MAK (2010) The cellular redox state in plant stress biology—a charging concept. *Plant Physiol. Biochem.* 48:292-300
- Quilis J, Peñas G, Messeguer J, Brugidou C, San Segundo B (2008) The *Arabidopsis* AtNPR1 inversely modulates defense response against fungal, bacterial, or viral pathogens while conferring hypersensitivity to abiotic stresses in transgenic rice. *Mol Plant Microbe Interact.* 21:1215-1231
- Ray DK, Gerber JS, MacDonald GK, and West PC (2015) Climate variation explains a third of global crop yield variability *Nature Comm.* 5989; doi:10.1038/ncomms6989
- Rustérucci C, Espunya MC, Díaz M, Chabannes M, Martínez MC (2007) S-nitrosoglutathione reductase affords protection against pathogens in *Arabidopsis*, both locally and systemically. *Plant Physiol.* 143:1282-1292
- Saleh A, Withers J, Mohan R, Marqués J, Gu Y, Yan S, Zavaliev R, Nomoto M, Tada Y, Dong X (2015) Posttranslational modification of the master transcriptional regulator NPR1 enable dynamic but tight control of plant immune responses. *Cell Host Microbe.* 18:169-182
- Sandhu D, Tasma IM, Frasch R, Bhattacharyya MK (2009) Systemic acquired resistance in soybean is regulated by two proteins, orthologous to *Arabidopsis* NPR1. *BMC Plant Biol.* 9:105
- Saruhan N, Saglam A, Kadioglu A (2012) Salicylic acid pretreatment induces drought tolerance and delays leaf rolling by inducing antioxidant systems in maize genotypes. *Acta Physiol Plant.* 34:97-106
- Scott IM, Clarke SM, Wood JE, Mur LA (2004) Salicylate accumulation inhibits growth at chilling temperature in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 135:1040-1049
- Shah J, Tsui F, Klessig DF (1997) Characterization of a salicylic acid-insensitive mutant (*sai1*) of *Arabidopsis thaliana*, identified in a selective screen utilizing the SA-inducible expression of the *tms2* gene. *Mol Plant Microbe Interact.* 10:69-78
- Shi Q, Bao Z, SZhu Z, Ying Q, Qian Q (2006) Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. *Plant Growth Regul.* 48:127-135
- Shi Z, Maximova S, Liu Y, Verica J, Guiltinan MJ (2013) The salicylic acid receptor NPR3 is a negative regulator of the transcriptional defense response during early flower development in *Arabidopsis*. *Mol. Plant* 6:802-816
- Siboza XI, Bertling I, Odindo AO (2014). Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *J. Plant Physiol.* 171: 1722-1731
- Slama I, Abdelly C, Bouchereau A, Flowers T, Savauré A (2015) Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Ann Bot.* 115:433-47
- Spoel SH, Mou Z, Tada Y, Spivey NW, Genschik P, Dong X (2009) Proteasome-mediated turnover of the transcription coactivator NPR1 plays dual roles in regulating plant immunity. *Cell* 137:860-872

- Srinivasan T, Raja Rajesh Kumar K, Meur G, Kirti PB (2009) Heterologous expression of Arabidopsis NPR1 (AtNPR1) enhances oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants. *Biotechnol Lett* 31:1343-1351
- Stevens J, Senaratna T, Sivasithamparam K (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regul* 49:77-83
- Strobel NE, Kuc A (1995) Chemical and biological inducers of systemic acquired resistance to pathogens protect cucumber and tobacco from damage caused by paraquat and cupric chloride. *Phytopathology* 85:1306-1310
- Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R (2014) Abiotic stress and biotic stress combination. *New Phytol.* 203:32-43
- Szalai G, Krantev A, Yordanova R, Popova L P, Janda T (2013) Influence of salicylic acid on phytochelatin synthesis in Zea mays during Cd stress. *Turk. J. Bot.* 37: 708-714
- Tada Y, Spoel SH, Pajerowska-Mukhtar K, Mou Z, Song J, Wang C, Zuo J, Dong X (2008) Plant immunity requires conformational changes of NPR1 via S-nitrosylation and thioredoxins. *Science* 321:952-956
- Tester M, and Langridge P (2010) Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science* 327: 818-822
- Volko SM, Boller T, Ausubel FM (1998) Isolation of new Arabidopsis mutants with enhanced disease susceptibility to *Pseudomonas syringae* by direct screening. *Genetics* 149:537-548
- Wildermuth M C, Dewdney J, Wu G, Ausubel F M (2001) Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature* 414:562-565
- Yuan Y, Zhong S, Li Q, Zhu Z, Lou Y, Wang L, Wang M, Li Q, Yang D, He Z (2007) Functional analysis of rice NPR1-like gene reveals that OsNPR1/NH1 is the rice orthologue conferring disease resistance with enhanced herbivore susceptibility. *Plant Biotechnol J* 5:313-324
- Zhang JY, Qia YS, Lv D, Gao ZH, Qu SC, , Zhang Z (2012) *Malus hupehensis* NPR1 induces pathogenesis-related protein gene expression in transgenic tobacco. *Plant Biol.* 14:46-56
- Zhang JY, Qu SC, Qia YS, Zhang Z, Guo ZR (2014) Overexpression of the *Malus hupehensis* MhNPR1 gene increased tolerance to salt and osmotic stress in transgenic tobacco. *Mol Biol Rep* 41:1553-1561
- Zhang Y, He Q, Zhao S, Huang L, Hao L (2014) Arabidopsis ein2-1 and npr1-1 response to Al stress. *Bull Environ Contam Toxicol.* 93:78-83
- Zhang Y, Xu S, Yang S, Chen Y (2015) Salicylic acid alleviates cadmium induced inhibition of growth and photosynthesis through upregulating antioxidant defense system in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.). *Protoplasma* 252: 911–924
- Zhong X, Xi L, Lian Q, Luo X, Wu Z, Seng S, Yuan X, Yi M (2015) The NPR1 homolog GhNPR1 plays an important role in the defense response of *Gladiolus hybridus*. *Plant Cell Rep.* 34:1063-1074