

# 비 생물학적 스트레스 시 벼에서 *OsABF3* 유전자 분리와 ABA 신호전달 대한 연구

안철현<sup>1</sup>, 박현범<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>국립한국농수산대학 교양공통학과, <sup>2</sup>수원대학교 바이오화학산업학부

## Studies on *OsABF3* Gene Isolation and ABA Signal Transduction in Rice Plants Against Abiotic Stress

Chul-Hyun Ahn<sup>1</sup> and Phun-Bum Park<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of General Education, Korea National College of Agriculture and Fisheries, Jeonju 54874, Korea

<sup>2</sup>Department of biochemical industry, The University of Suwon, Suwon 18323, Korea

**Abstract** - Abscisic acid (ABA) is an important phytohormone involved in abiotic stress tolerance in plants. The group A bZIP transcription factors play important roles in the ABA signaling pathway in *Arabidopsis* but little is known about their functions in rice. In our current study, we have isolated and characterized a group A bZIP transcription factor in rice, *OsABF3* (*Oryza sativa* ABA responsive element binding factor 3). We examined the expression patterns of *OsABF3* in various tissues and time course analysis after abiotic stress treatments such as drought, salinity, cold, oxidative stress, and ABA in rice. Subcellular localization analysis in maize protoplasts using a GFP fusion vector further indicated that *OsABF3* is a nuclear protein. Moreover, in a yeast one-hybrid experiment, *OsABF3* was shown to bind to ABA responsive elements (ABREs) and its N-terminal region found to be necessary to transactivate a downstream reporter. A homozygous T-DNA insertional mutant of *OsABF3* is more sensitive to salinity, drought, and oxidative stress compared with wild type plants & *OsABF3OX* plants. In addition, this *Osabf3* mutant showed a significantly decreased sensitivity to high levels of ABA at germination and post-germination. Collectively, our present results indicate that *OsABF3* functions as a transcriptional regulator that modulates the expression of abiotic stress- responsive genes through an ABA-dependent pathway.

**Key words** - ABA dependent, Abiotic stress, ABREs, bZIP, *OsABF3*

### 서 언

대부분의 식물은 동물과 다르게 뿌리 정착 후에는 이동성이 결여되어 비 생물학적인 스트레스(온도, 가뭄, 염, ABA, 산화)에 대해 회피 할 수 있는 능력이 떨어진다. 그러므로 생존을 위해서는 식물 스스로가 스트레스에 대해 적응하기 위해서 여러 경로를 통한 방어기작을 발달시키고 그로 인해 내성을 증가시켜 왔으며, 스트레스에 대한 내성을 가지지 못하면 생태계에서 사라지는 특징을 가지고 있다(Abe *et al.*, 1997; Bohnert and Jense, 1996). 식물이 환경적인 스트레스에 노출되었을 때 일어

나는 반응 및 형태적 변화와 더불어 방어기작에 대한 많은 연구를 통해 관련 유전자들의 기능이 밝혀지고 있다(Hasegawa *et al.*, 2000; Miura *et al.*, 2001). 따라서 여러 가지 환경 스트레스에 대해 적응 할 수 있는 유전자는 자원식물이나 식용작물에 대해서 저항성을 증가시키는데 중요한 유전자원으로 활용은 유전자 발현의 변화와 세포의 대사 작용 변화를 통하여 식물의 생장률과 생산성의 변화를 일으킨다(Kwon *et al.*, 2010). 해변가에 서식하는 염색식물 중 ice plant와 콩과 식물에서는 가뭄 스트레스 시 IMT (Inositol methyltransferase), OEP (Ononitol epimerase) 유전자의 대량 발현을 통해 스트레스에 저항성을 보이면서도 생성된 물질은 항당뇨와 관련된 기능성 물질을 축적시켜 고기능성 물질 생산에 가능성을 보이고 있으며(Vernon and Bohnert, 1992; Chiera *et al.*, 2006) 여뀌 추출물에서는

\*교신저자: pbpark@suwon.ac.kr

Tel. +82-31-220-2236

Wnt/ $\beta$ -catenin 신호전달계를 활성화 시켜서 항비만 효과가 있다고 보고되었다(Kim and Kim, 2016). 2003년에 발생한 흑서로 인해 유럽의 농작물 생산량이 30% 감소했다고 보고된 바 있다(Ciais *et al.*, 2005). 따라서 비 생물학적 스트레스는 식물의 성장과 작물 생산성을 저해하는 장애물이며, 또한 이러한 반응을 이해하는 것은 식물과학 연구에 있어 중요한 문제라고 할 수 있다. 애기장대(*Arabidopsis*)에서 밝혀진 연구를 통해 스트레스에 관여하는 호르몬 중 ABA는 식물에서 종자의 휴면, 성숙, 저해 그리고 세포 분열의 저해 등과 같은 생명 현상과 관련된 기능을 하는 동시에 각종 스트레스 상황에서 많은 유전자들의 발현을 조절함으로써 내성을 가지게 한다는 연구 결과가 있고 (Leung and Giraudat, 1998; Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2000; Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2005), 이를 통해 식물이 스트레스에 적응하는 경로에는 ABA-의존적 경로와 ABA-비 의존적 경로가 존재하는 것이 밝혀지면서(Kim, 2007; Lu *et al.*, 2008) ABA-의존적 경로는 스트레스에 반응하는 유전자의 발현을 증강시키는 것을 알게 되었다 (Finkelstein *et al.*, 2002; Himmelbach *et al.*, 2003; Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2000; Xiang *et al.*, 2008; Zhu, 2002). 따라서 식물이 다양한 비 생물학적 스트레스에 반응, 적응하는 동안 많은 스트레스와 연관된 유전자들의 전사가 유도될 수 있는 신호를 전달하여 스트레스 저항과 연관된 기능을 가진 단백질들이 축적된다. 스트레스로 인해 유도되는 유전자의 전사조절은 ABA 신호전달에 따라 식물이 스트레스 상황에 적응하는데 중요한 역할을 한다(Zhu, 2002).

전사인자(transcription factors)는 식물의 성장, 발달, 생물학적 스트레스, 비 생물학적 스트레스를 포함하는 생물학의 모든 면에서 중요한 조절자 역할을 한다(Singh *et al.*, 2002). Basic leucine zipper (bZIP) 전사인자 family는 DNA에 결합하는 basic region과 이량화에 관여하는 leucine zipper region으로 구성되어 있다(Hurst, 1994; Jakoby *et al.*, 2002). 이러한 bZIP 전사인자 중 일부가 ABA-responsive elements (ABREs)와 상호작용 하는데 이 ABREs는 PyACGTGGC core sequence를 포함하는 *cis*-acting element를 포함하고 있으며, ABA에 의해 유도되는 유전자의 promoter region에 존재한다. *Arabidopsis mesophyll* 원형질체를 사용하여 실험한 결과 ABRE를 가지고 있는 reporter 유전자의 전사가 ABFs와 AREB1, AREB2에 의해 증강되는 것으로 보고되었다(Nakashima *et al.*, 2006; Uno *et al.*, 2000). 애기장대에서 아미노산 서열의 유사성에 따라 75개의 bZIP 전사인자를 10개의 subfamilies로 분류하였다. 이 중 A

group은 13개의 ABF를 포함하며, 주로 성장하는 조직에서 ABA 혹은 스트레스 신호전달에 관련된 역할을 한다(Jakoby *et al.*, 2002). 이 중 ABF2/AREB1, ABF4/AREB2, ABF3는 ABA, 탈수, 염분 스트레스에 의해 이들 유전자의 전사가 증가하며(Uno *et al.*, 2000), 애기장대와 벼에서 ABF3의 과발현은 가뭄에 내성을 증가시킨다(Kang *et al.*, 2002; Oh *et al.*, 2005). 또한 벼에서 ABA 신호전달의 양성 조절자인 *ObZIP23*, *OsbZIP72*의 과발현은 비 생물학적 스트레스에 대한 내성을 증가시키는 것으로 보고되었다(Xiang *et al.*, 2008). ABRE1, ABRE2, ABF3는 가뭄 스트레스에 대한 내성에 관련된 ABRE 의존적인 ABA 의존적 신호전달을 조절하는 주된 전사인자이며, 완전한 활성을 위해서는 ABA가 필요하다는 사실이 입증되고 있다. 애기장대는 쌍떡잎 식물에서 중요한 모델 식물이고, 벼는 전 세계에서 가장 중요한 주요 작물이며, 외떡잎 식물의 분자 생물학 연구에 중요한 모델식물이다. 따라서 벼에서 비 생물학적 스트레스에 반응하는 bZIP에 대한 연구는 외떡잎식물의 분자 생물학적 연구뿐만 아니라 생명공학에 의한 비 생물학적 스트레스에 내성식물을 개선하는 것에도 중요하다. 본 연구는 식물의 환경 스트레스에 대해 내성이 증가되는 알려진 ABRE-binding bZIP 전사인자 중에서 아직 기능이 밝혀지지 않은 *OsABF3* 유전자를 분리하고 발현 양상을 파악하여 궁극적으로 식물의 비생물학적 스트레스에 의해 유도되는 bZIP 전사인자인 *OsABF3*의 특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 식물 재료, 성장 조건, 스트레스 처리 방법

야생형 벼(*Oryza sativa* L. cultivar Dongjin) 표면을 70% ethanol로 소독 하고 멸균수에 4°C, 암상태에서 하루 동안 침종시킨 후 식물 배양기에서 2주간 수경재배 하였다(28°C, 80% humidity, 14/10시간 day/night photoperiod). 2주간 키운 벼를 각각의 가뭄(10% polyethylene glycol (PEG)), 염분(250 mM NaCl), 산화스트레스(10  $\mu$ M Methyl Viologen (MV)), 저온(4°C), ABA (100  $\mu$ M) 스트레스를 0, 3, 6, 12, 24, 48시간 동안 처리하였다.

### cDNA 클로닝

야생형 벼(*Oryza sativa* L. cv. Dongjin)에서 *OsABF3* full length cDNA, *OsABF3 $\Delta$ N*, *OsABF3 $\Delta$ C*를 클로닝하기 위해 각각의 primer를 제작한 후(Table 1), Ex *Taq* (Takara)을 이용하

Table 1. Primer sequences used in the PCR

Gene	Primer sequence (5'-3')
<i>OsABF3</i>	F' - GGAATTCCATATGATGATTCAGGCAATGGCT
	R' - CGGAATTCTCAGAAGGCGGCCGAG
<i>OsABF3</i> $\Delta N$	F' - GGAATTCCATATGGCTGGGGTTGTACGG
	R' - CGGAATTCTCAGAAGGCGGCCGAG
<i>OsABF3</i> $\Delta C$	F' - GGAATTCCATATGATGATTCAGGCAATGGCT
	R' - CGGAATTCTAGCCACTGTGCTCCGGC
<i>OsABF3</i> RT-PCR	F' - GCTTGAGGATTCCTGGTCA
	R' - GCTTGTTTCGCCTGAGTTGAT
<i>OsActin1</i>	F' - CATGCTATCCCTCGTCTCGACCT
	R' - CGCACTTCATGATGGAGTTGTAT
<i>Osabf3-1</i> Genotyping	F' - CTCGATAGAAAACGAGCGG
	R' - GTTCGCTGATGTGTTGATG
<i>Osabf3-2</i> Genotyping	F' - TAACATGCATGCATGTCTGC
	R' - ACACCTCATCCACCGTCTTC
<i>OsABF3</i> p2FGW7	F' - CACCATGATTCAGGCAATGGC
	R' - TCAGAAGGCGGCCGAGCTTGT
<i>OsABF3</i> p2GFW7	F' - CACCATGATTCAGGCAATGGC
	R' - GAAGGCGGCCGAGCTTGTTCG

여 PCR하여 각각 증폭시킨 뒤 전기영동으로 확인하였다. PCR 증폭 산물인 각각의 DNA 조각을 MEGAquick-spin PCR & Agarose Gel DNA Extraction Kit (iNtTON)을 이용하여 elution 한 뒤 *NdeI*, *EcoRI* restriction enzyme (NEB)를 이용하여 PCR product 양 끝과 pGADT7, pGBKT7 벡터를 절단한 뒤 각각의 벡터에 클로닝 하였다.

#### RT-PCR 수행

각각의 샘플 식물에 스트레스를 처리한 후 시간대 별로 채취한 벼 조직 0.06 g을 액체 질소에 얼린 후 조직분쇄기인 MM301 Glinder와 bead를 2 ml e-tube 넣고 20회, 초/1분간 rpm 속도로 흔들어서 조직을 파쇄 한 뒤 e-tube 반대 방향으로 뒤집어 한 번 더 조직을 파쇄 하였다. 파쇄 한 조직을 RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)로 분리한 뒤 RNA 4  $\mu$ g을 DiaStar 2X RT Pre-Mix (SolGent co., Ltd.)를 이용하여 cDNA를 합성하였고, *OsABF3* RT-PCR Primer (Table 1)와 FR-*Taq* polymerase (Biomedic)로 PCR (95°C 5분 - 1 cycle/ 95°C 1분, 55°C 1분, 72°C 1분 - 30 cycle/ 72°C 10분 - 1 cycle) 한 뒤 2% agarose gel로 전기영동으로 확인하였다(Fig. 1).

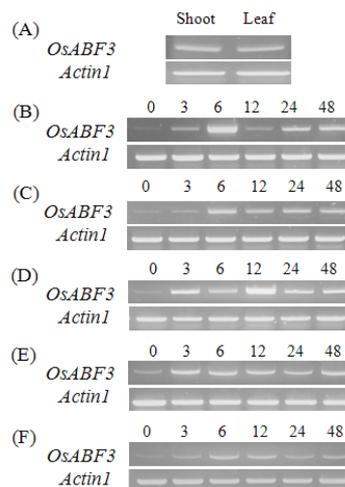


Fig. 1. Expression analysis of the *OsABF3* gene in various rice tissues under normal conditions and in leaves under different stress conditions.

(A) Expression pattern of *OsABF3* gene under various tissues of rice. (B-F) Expression pattern of the *OsABF3* gene under conditions of drought (10% PEG), salinity (250 mM NaCl), oxidative stress (10  $\mu$ M MV), cold (4°C), and ABA (100  $\mu$ M) treatment of rice seedlings at 0, 3, 6, 12, 24 and 48h after stress onset. The rice *actin1* gene was used as an internal control. Similar results were obtained from three repeat experiments.

### GFP fusion 단백질의 세포내 발현

cDNA를 주형으로 *OsABF3* p2FGW7 (N-terminal) primer, *OsABF3* p2GWF7 (C-terminal) primer, TaKaRa Ex *Taq* (Takara)을 이용하여 PCR 한 *OsABF3* full-length cDNA를 pENTR/D-TOPO vector (Invitrogen)에 삽입한 뒤 LR clonase (Invitrogen)을 이용하여 destination 벡터인 p2FGW7 (N-terminal), p2GWF7 (C-terminal)에 클로닝 하였다. CaMV35S promoter 가 포함된 벡터에 각각 클로닝 된 GFP-*OsABF3*, *OsABF3*-GFP fusion clone을 PEG-calcium mediated method를 이용하여 옥수수 mesophyll 원형질체에 형질전환한 후 12-24시간 동안 incubation하여 발현을 관찰하였다. 이 때 chlorophyll autofluorescence를 chloroplast marker로 *OsABF1*-RFP를 nuclear marker로 사용하였고, fusion protein의 발현은 confocal microscope (LSM 510 META, Carl Zeiss, Jena, Germany)를 이용하여 관찰하였다.

### Yeast one hybrid 실험

*OsABF3*와 ABA responsive elements (ABREs)가 상호작용 하는지 알아보기 위해 yeast one hybrid 실험을 하였다. Yeast strain은 lacZ reporter system을 가진 pYC-Int 벡터의 Sma I cloning site에 Emla element (GGACACGTGGCG) primer를 삽입하여 제작한 pYC-Int/ABRE, pYC-Int YIP yeast cell을 이용하였다. pGADT7 벡터에 각각 클로닝 된 *OsABF3* full-length cDNA, *OsABF3*ΔN, *OsABF3*ΔC (Fig. 3A)를 small-scale LiAc 방법을 이용하여 pYC-Int, pYC-Int/ABRE에 형질전환 하여 SD Ura<sup>-</sup>, Trp<sup>-</sup> 배지에서 배양하였다. 그 후 SD Ura<sup>-</sup>, Trp<sup>-</sup> 배지에 계대하였고, O-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG)를 기질로 이용하여 β-galactosidase activity를 측정 하였다.

### 효모에 형질전환 후 활성 확인

*OsABF3*의 transactivation 능력을 측정하기 위해 yeast one-hybrid 실험을 이용하였다. pGBKT7 벡터에 각각 클로닝 된 *OsABF3* full-length cDNA, *OsABF3*ΔN, *OsABF3*ΔC 플라스미드(Fig. 3B)를 small-scale LiAc 방법을 이용하여 AH109 strain에 형질전환하여 SD Trp<sup>-</sup> 배지에 배양하였다. 그 후 AH109 strain의 reporter 유전자 중 하나인 Histidine이 빠진 SD Trp<sup>-</sup>, His<sup>-</sup> (+3AT) 배지에 농도별로 배양하여 colony 생성여부를 관찰하였고, SD Trp<sup>-</sup>, His<sup>-</sup> (+3AT) 배지에 계대한 후 ONPG를 기질로 이용하여 β-galactosidase activity를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

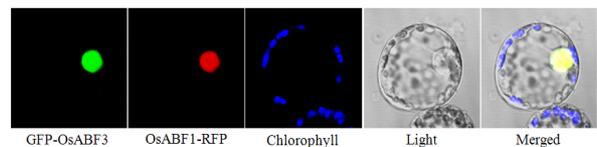
### 비 생물학적 스트레스 조건에서 *OsABF3*의 발현

줄기와 잎 그리고 비 생물학적 스트레스 조건에서 *OsABF3*의 발현 패턴을 분석하기 위해 정상 조건과 비 생물학적 스트레스 (가뭄, 염분, 저온, ABA, 산화) 조건에서 키운 잎을 각각 시간대 별로 RT-PCR을 수행 하였다. 결과적으로 가뭄(Fig. 1B), 산화(Fig. 1D), 저온(Fig. 1E) 스트레스를 처리 후 3시간 때부터 *OsABF3*의 전사량이 증가하였으며, 저온 스트레스는 증가된 상태가 계속적으로 유지되는 반면 가뭄과 산화 스트레스는 각각 6시간, 12시간 때부터 급격하게 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 염분(Fig. 1C), ABA (Fig. 1F)를 처리 했을 때에는 6시간 때부터 전사량이 증가된 것을 관찰할 수 있었으며, 염분 스트레스에서는 계속적으로 증가된 상태가 유지되었지만 ABA 스트레스를 처리 했을 때에는 24시간 때부터 전사량이 약하게 감소 되는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과들로 보아 *OsABF3*의 전사는 다양한 비 생물학적 스트레스에 의해 증가됨을 알 수 있었다.

### *OsABF3*의 세포내 위치 확인

CaMV35S 프로모터에 의해 제어되는 GFP-*OsABF3*와 *OsABF3*-GFP fusion 단백질을 옥수수 mesophyll 원형질체에 삽입시킨 뒤 형광 현미경으로 발현을 관찰하여 *OsABF3*의 세포내 위치를 확인하였다. *OsABF1*-RFP를 핵 표지자로 사용하였으며, GFP-

(A) GFP-*OsABF3*



(B) *OsABF3*-GFP

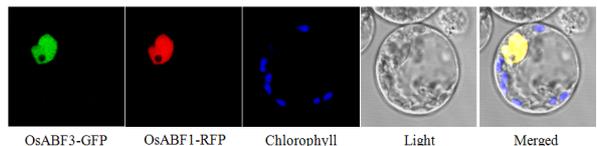


Fig. 2. Subcellular localization of GFP-*OsABF3* and *OsABF3*-GFP fusion proteins in transfected mesophyll protoplasts of maize. (A) GFP-*OsABF3*; (B) *OsABF3*-GFP Chlorophyll autofluorescence and *OsABF1*-GFP were used as chloroplast and nuclear markers, respectively. A false color (blue) was used to monitor chlorophyll autofluorescence to distinguish it from GFP (green) and RFP (red) fluorescence.

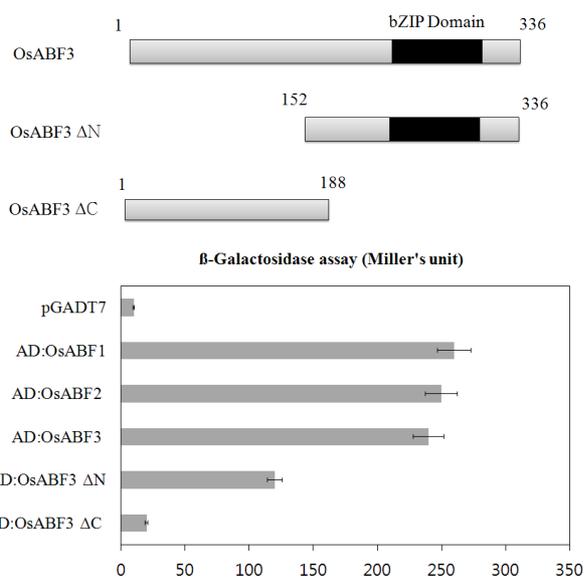


Fig. 3. ABRE-mediated DNA-binding assays of the OsABF3 protein using Y1H assay.

OsABF3와 OsABF3-GFP fusion protein 모두 옥수수(maize) 원형질체의 핵에서 발현됨을 알 수 있었다(Fig. 2). 따라서 OsABF3는 핵 단백질임이 증명되었다.

### OsABF3의 ABRE-mediated DNA-binding 확인

클로닝 된 플라스미드들과 양성 대조군들을 yeast strain YIP에 삽입하여 SD Ura<sup>-</sup>, Leu<sup>-</sup> 배지에 배양하였고, ONPG 기질을 이용하여 β-galactosidase activity를 측정하였다(Fig. 3). 그 결과 *OsABF3ΔC*에 비해 *OsABF3ΔN*이 높게 측정되었다. *Cis*-acting element가 포함된 ABREs와 OsABF3가 결합하는데 OsABF3 C-terminal 부분이 필수적이라는 것을 확인하였다.

### 형질전환 후 OsABF3의 활성 측정

클로닝 된 플라스미드와 양성대조군인 BD: OsABF1, BD: OsABF2와 음성대조군인 pGBKT7 벡터를 yeast strain AH109에 형질 전환하여 SD Trp<sup>-</sup>, His<sup>-</sup> 배지에서 농도별로 키워 콜로니 생성여부를 관찰하였고(Fig. 4A), ONPG 기질을 이용하여 β-galactosidase activity를 측정하였다(Fig. 4B). 그 결과 BD: OsABF3ΔC에서는 전사촉진 능력이 관찰되었지만, BD:OsABF3와 BD:OsABF3ΔN에서는 관찰되지 않았다. 이것은 OsABF3의 N-terminal 부분도 transactivation 하는데 꼭 필요한 부분이라는 것을 알 수 있었으며, OsABF3 N-terminal 부분은 하위 유

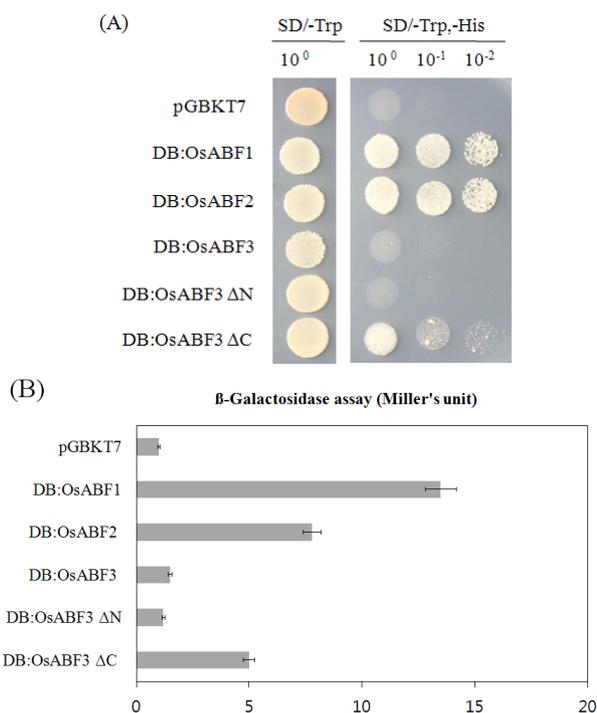


Fig. 4. Transactivation activity assays of the OsABF3 protein using Y1H assay.

전자의 전사를 조절하는 transcriptional activator라는 것을 알 수 있었다. 더 나아가 *OsABF3* 전체 cDNA에서 transactivation이 억제된 것으로 보아 OsABF3의 C-terminal 부분에 transactivation을 저해하는 부분이 존재할 것이라는 추측하였다.

## 적 요

ABA는 식물에서 비 생물학적 스트레스 내성에 관여하는 중요한 식물 호르몬이다. 애기장대의 group A bZIP 전사인자는 ABA 신호전달 과정에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 그러나 벼에서는 group A bZIP 전사인자의 기능이 잘 알려져 있지 않다. 따라서 우리는 벼에서 group A bZIP 전사인자인 *OsABF3* (*Oryza sativa* ABA responsive element binding factor 3)를 연구하였다. 이를 위해 벼의 다양한 조직과 다양한 스트레스(가뭄, 염분, 저온, ABA, 산화 스트레스)에 따른 *OsABF3* 발현 패턴을 분석하였다. 또한 maize의 원형질체에서 GFP fusion 벡터를 사용한 세포 내 위치 분석을 통해 OsABF3가 핵단백질이라는 것을 확인하였다. Yeast one-hybrid 실험을 통해 OsABF3의 C-terminal 부분이 ABREs에 결합한다는 것과 N-terminal 부분이 하위 유전자의 transactivation 하는데 필요하다는 것을 알

수 있었다. 그리고 T-DNA가 삽입된 *OsABF3*의 homozygous 돌연변이체가 야생형과 과발현체에 비해 발아와 발아 후 단계에서 고농도의 ABA에 대한 민감도가 더 감소한 것을 알 수 있었다. 결과적으로 종합해 볼 때 *OsABF3*는 ABA의 의존적인 경로를 통해 비 생물학적 스트레스에 반응하는 유전자의 발현을 조절하는 기능을 하는 전사 조절자이다. 또한 *OsABF3*의 transactivation을 측정하는 실험에 있어서 억제 domain이 존재한다는 결과를 얻었다.

## References

- Abe, H., K.Y. Shinozaki, T. Urano, T. Iwasaki, D. Hosokawa and K. Shinozaki. 1997. Role of *Arabidopsis* MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell* 9:1859-58.
- Bohnert, H.J. and R.G. Jensen. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnol.* 14:89-97.
- Chiera, j.m., J.G. Streeter and J.J. Finer. 2006. Ononitol and pinitol production in transgenic soybean containing the inositol methyl transferase gene from *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Sci.* 171:647-654.
- Ciais, P., M. Reichstein and N. Viovy. 2005. Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* 437:529-533.
- Finkelstein, R. R., S.S.L. Gampala and C.D. Rock. 2002. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *The Plant Cell* 14: S15-S45.
- Hasegawa, P.M., R.A. Bressan, J.K. Zhu and H.J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol, Plant Mol. Biol.* 51:463-499.
- Himmelbach, A., U. Ung and E. Grill. 2003. Relay and control of abscisic acid signaling. *Curr Opin Plant Biol.* 6:470-479.
- Hurst, H.C. 1994. Transcription factors 1. bZIP proteins. *Protein Profile* 1:123-168.
- Jakoby, M., B. Weisshaar, W. Droge-Laser, J. Vicente-Carbajosa, J. Riedemann, T. Kroj and F. Parcy. 2002. bZIP transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.* 7:106-111.
- Kang, J.Y., H.I. Choi, M.Y. Im and S.Y. Kim. 2002. *Arabidopsis* basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. *The Plant Cell* 14:343-357.
- Kim, S.Y. 2007. Recent advances in ABA signaling. *J Plant Biol.* 50:117-121.
- Kim, B.R. and H.S. Kim. 2016. Effect on Wnt/ $\beta$ -catenin pathway of methanol extracts from native plants in Korea. *Korean J. Plant Res.* 29(5):620-624.
- Kwon, S.T., H.J. Jeong and P.M. Hasegwawa. 2010. Gene expression and response of *arabidopsis* AtSIZ3 mutants to temperature and drought stress. *Korean J. Plant Res.* 23(1): 25-30.
- Leung, J. and J. Giraudat. 1998. Abscisic acid signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 49:199-222.
- Lu, G., C. Gao, X. Zhong and B. Han. 2008. Identification of OsbZIP72 as a positive regulator of ABA response and drought tolerance in rice. *Planta* 229:605-15.
- Miura, K., A. Rus, A. Sharkhuu, S. Yokoi, A.S. Karthikeyan, K.G. Raghothama, D. Baek, Y.D. Koo, J.B. Jin, R.A. Bressan, D.J. Yoon and P.M. Hasegawa. 2005. The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ 1 controls phosphate deficiency response. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102:7760-7765.
- Nakashima, K., Y. Fujita, K. Katsura, K. Maruyama, Y. Narusaka, M. Seki, K. Shinozaki and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2006. Transcriptional regulation of ABI3 and ABA responsive genes including RD29B and RD29A in seeds, germinating embryos and seedlings of *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol.* 60:51-68.
- Oh, S.J., S.I. Song, Y.S. Kim, H.J. Jang, S.Y. Kim, M. Kim, Y.K. Kim, B.H. Nahm and J.K. Kim. 2005. *Arabidopsis* CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth. *Plant Physiol.* 138:341-351.
- Shinozaki, K. and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Curr Opin Plant Biol.* 3(3):217-23.
- Singh, K., R.C., Foley and L. Oñate-Sánchez. 2002. Transcription factors in plant defense and stress responses. *Curr Opin Plant Biol.* 5(5):430-6.
- Uno, Y., T. Furihata, H. Abe, R. Yoshida, K. Shinozaki and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2000. *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97:11632-11637.
- Vernon, D.m. and H.J. Bohnert. 1992. Increased expression of a myo-Inositol methyl transferase in *mesembryanthemum crystallinum* Is part of a stress response distinct from crassulacean acid metabolism induction. *Plant Physiol.* 99:1695-1698.
- Xiang, Y., N. Tang, H. Du, H. Ye and L. Xiong. 2008. Cha-

racterization of OsbZIP23 as a key player of basic leucine zipper transcription factor family for conferring Abscisic acid sensitivity and salinity and drought tolerance in rice. *Plant Physiol.* 148:1938-1952.

Yamaguchi-Shinozaki, K. and K. Shinozaki. 2005. Organization

of *cis*-acting regulatory elements in osmotic and cold stress responsive promoters. *Trends Plant Sci.* 10:88-94.

Zhu, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol.* 53:247-273.

(Received 1 August 2017 ; Revised 19 October 2017 ; Accepted 23 October 2017)