

고등식물의 질산시그널에 의한 유전자 발현제어 관련 전사인자의 연구현황

정유진 · 박정순 · 고지윤 · 이효주 · 김진영 · 이예지 · 남기홍 · 조용구 · 강권규

Research status of transcription factors involved in controlling gene expression by nitrate signaling in higher plants

Yu Jin Jung · Joung Soon Park · Ji Yun Go · Hyo Ju Lee · Jin Young Kim · Ye Ji Lee · Ki Hong Nam · Yong-Gu Cho · Kwon Kyo Kang

Received: 10 August 2021 / Revised: 1 September 2021 / Accepted: 1 September 2021
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Nitrate is an important nutrient and signaling molecule in plants that modulates the expression of many genes and regulates plant growth. In this study, we cover the research status of transcription factors related to the control of gene expression by nitrate signaling in higher plants. Nitrate reductase is a key enzyme in nitrogen assimilation, as it catalyzes the nitrate-to-nitrite reduction process in plants. A variety of factors, including nitrate, light, metabolites, phytohormones, low temperature, and drought, modulate the expression levels of nitrate reductase genes and nitrate reductase activity, which is consistent with the physiological role if. Recently, several transcription factors controlling the expression of nitrate reductase genes have been identified in higher plants. NODULE-INCEPTION-Like Proteins (NLPs) are transcription factors responsible for the nitrate-inducible expression of nitrate reductase genes. Since NLPs also control the nitrate-inducible expression of genes encoding

the nitrate transporter, nitrite transporter, and nitrite reductase, the expression levels of nitrate reduction pathway-associated genes are coordinately modulated by NLPs in response to nitrate. Understanding the function of nitrate in plants will be useful to create crops with low nitrogen use.

Keywords Nitrate, Nitrate signal, NLP transcription factor, Gene expression

서 언

최근 들어 다양한 작물에서 계놈 정보 및 유전자 발현정보 등의 데이터베이스가 정비되고 있다. 질소(N)는 식물 중에 탄소, 산소, 수소에 이어 4번째 많이 존재하는 원소로서, 단백질, 엽록소, 뉴클레오티드 및 호르몬 등을 구성하며 식물 생장과 발육 및 생산량을 결정하는 중요한 역할을 담당하고 있다. 식물생육에 필수적인 질소원은 질산이온, 암모니아 이온 및 질소 유기 화합물로서 토양에 많이 존재한다. 그중 질산이온은 식물이 흡수한 후, 동화되어 아미노산, 핵산 및 조효소 단백질 등으로 이용된다(Crawford 1995; Masclaux-Daubresse et al. 2010). 식물에 질산이온의 투여는 지상부의 녹화촉진, 측근 생장촉진 및 식물의 생장과 분화에 커다란 영향을 미친다고 알려져 있다(Forde 2002; Hilhorst and Karssen 1989; Schauser et al. 1999). 질산이온은 식물호르몬과 밀접하게 관련이 있어, 뿌리의 사이토키닌 생합성을 유도하고, shoot의 생장을 조절하며(Landrein et al. 2018; Takei et al. 2001), 뿌리의 옥신 수송을 조절한다고 하였다(Krouk et al. 2010). 토양 중에 존재하는 질산이온을 뿌리가 효율적으로 흡수하고, 식물체 내에 수송하기 위해 능동적인 수송체계를

[†]These authors contributed equally to this work.

Y. J. Jung[†] · J. S. Park[†] · J. Y. Go · H. J. Lee · J. Y. Kim · Y. J. Lee · K. H. Nam · K. K. Kang (✉)
환경대학교 생명공학부 원예생명공학전공
(Division of Horticultural Biotechnology, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea)
e-mail: kykang@hknu.ac.kr

Y. J. Jung · K. K. Kang
환경대학교 유전공학연구소
(Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea)

Y.-G. Cho
충북대학교 식물자원학과
(Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea)

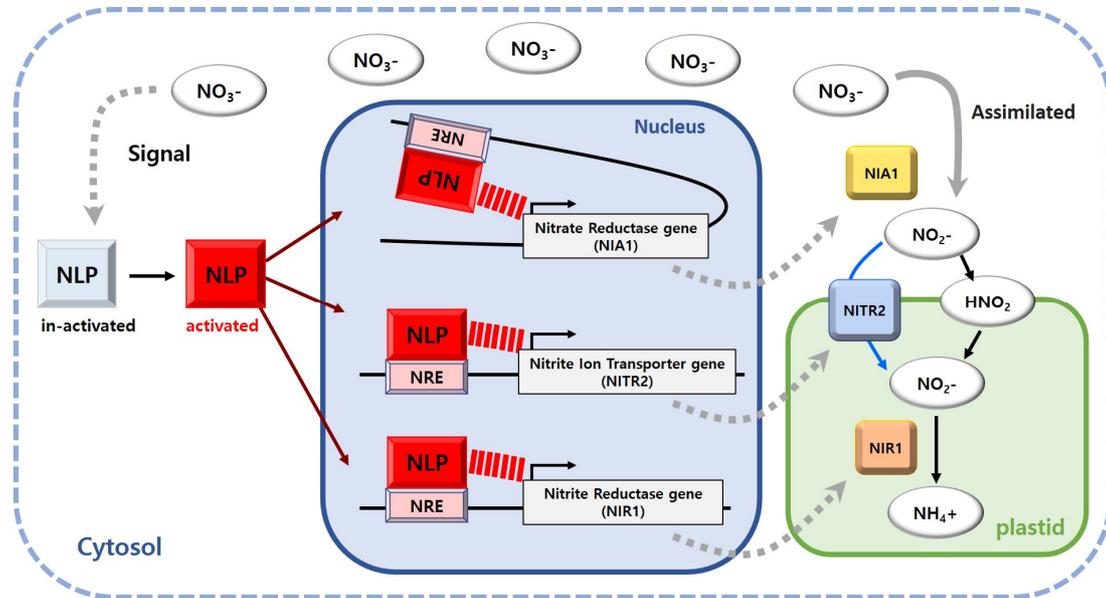


Fig. 1 Model of gene expression related to nitrate signaling in higher plants

갖고 있다(Tsay et al. 2007). 식물이 흡수한 질산이온은 질산 환원효소(NR)에 의해 아질산 질소가 된 후, 아질산환원효소(NiR)에 의해 암모니아 이온으로 환원되고, 계속해서 글루타민합성효소(GS)에 의해 글루타민으로 환원되어 다양한 아미노산 및 핵산 등을 함유한 질산화합물로 이용된다(Masclaux-Daubresse et al. 2010). 또한, 질산이온은 그 자체가 시그널로 작용하며, 정보전달물질로서 생리활성 기능이 있고(Zhao et al. 2018), 질산이온에 의해 발현이 조절되는 유전자군 등이 존재한다고 하였다(Crawford 1995; Deng et al. 1989; Redinbaugh and Campbell 1993; Wang et al. 2003). 최근 들어 모델 식물인 애기장대와 벼를 중심으로 질산 시그널에 응답하는 유전자 발현연구가 활발하게 진행되고 있다. 질산이온이 불활성화된 상태로 세포 내에 존재하고 있는 NLP (NIN-like protein)와 같은 전사인자가 NO₃⁻ 시그널 전달에 응답하여 활성화되고, 질산 응답 배열(NRE)에 결합하여 표적 유전자의 전사를 촉진할 뿐 아니라 세포 내에서 다양한 응답 과정을 일으키고 있다(Castaings et al. 2009; Chardin et al. 2014; Marchive et al. 2013; Yan et al. 2016; Yu et al. 2016). 따라서 본 논문에서는 고등식물에서 질산 동화 및 축적을 위해 토양에 존재하는 질산이온이 세포에 시그널로 작용하여 유전자 발현유도, 응답 유전자들의 구조적 특성 및 응답을 제어하는 전사인자 등에 대해 지금까지 알려진 연구현황을 소개하고 고찰하고자 한다.

질산 시그널은 유전자발현을 유도한다

벼 재배과정 중에 NO₃⁻을 처리하면 질산환원효소 활성이 유도된다고 알려져 왔다(Tang and Wu 1957). 그 후 보리로부터 질산 환원 유전자를 최초로 분리하여 유전자 발현분석을 수행한 결과 NO₃⁻ 처리에 따라 질산 환원 유전자의 발현이 증

가하였다(Cheng et al. 1986). 또한, NO₃⁻ 처리 후 15분부터 질산 환원 유전자뿐 아니라 질산이온 수송체 유전자 및 아질산 환원효소 유전자 등 질산 동화에 관련된 유전자발현이 함께 유도된다고 알려졌다(Obertello et al. 2015). 전사 산물의 포괄적 해석 (Transcriptome 분석)을 통해 NO₃⁻ 수송 및 동화에 관련된 유전자, 전사인자, 단백질인산화효소 유전자 및 몇몇 원소 수송에 관련 유전자 등이 NO₃⁻ 처리에 의해 유도되었다(Obertello et al. 2015; Scheible et al. 2004; Wang et al. 2003). 따라서 이들 연구는 질산 시그널이 유전자발현제어를 매개하여 질산 동화를 촉진 시킬 뿐 아니라 광범위한 생리반응에 관련이 있을 가능성을 시사한다. 이와 같이 질산 시그널에 의해 유전자발현이 유도되는 현상은 담배, 보리, 옥수수 및 시금치 등에서 보고되었다(Obertello et al. 2015). NO₃⁻ 처리에 응답한 유전자발현은 시그널 분자로 NO₃⁻ 자체의 활성화로 유도된다. 세포에 들어온 NO₃⁻는 질산환원효소에 의해 NO₂⁻으로 환원되고, 그 후 NH₄⁺에 의해 환원되어 아미노산에 속해진다(Fig. 1). 이 동화경로의 최초 효소인 질산환원효소 유전자가 결실된 돌연변이체에서 NO₃⁻ 처리에 따라 많은 유전자의 발현이 유도되었다(LaBrie et al. 1991; Pouteau et al. 1989; Scheible et al. 1997; Wang et al. 2004). 이는 질산 동화 후에 생성된 암모니아 및 아미노산 등의 동화 산물에는 유전자의 발현이 유도되지 않은 것을 미루어 볼 때 NO₃⁻ 자체가 정보 전달물질이라는 것을 의미한다(Gowri et al. 1992; Sakakibara et al. 1996).

NRE 배열은 질산 시그널에 응답한다

질산 유도성 유전자 근처에 존재하는 질산 응답 관련 DNA 배열(Nitrate response element, NRE)에 대해 애기장대 유래 아

질산환원유전자(*NIR1*)의 프로모터를 해석하는 과정에서 NRE가 분리되었다(Konishi and Yanagisawa 2010). 이 배열은 *NIR1*의 전사 개시점(Start codon)으로부터 40 bp 상류(번역 개시점으로부터 계산해 보면 62 bp 상류)에 있는 5'-TGACC CTT-(N₁₀)-AAGAG 배열이며, 5'측에 CCCTT 배열, 그리고 10 개의 임의 염기배열 이후에 3'측에 AAGAG 배열을 가진 불완전한 회문상 배열로 구성되었다(Fig. 2). 이 NRE 배열을 합성한 프로모터(ATG, TATA box 및 프로모터 배열)에 연결하여 형질전환 후, 얻어진 식물체에 NO₃⁻ 처리를 통해 응답한 유전자들의 발현이 높게 나타났다(Konishi and Yanagisawa 2010). 따라서 이 배열만으로도 질산 유도형의 전사촉진에

충분하다고 생각된다. 그 후, 시금치와 옥수수 등에서 아질 산환원효소 유전자의 전사 개시점 근방에서 애기장대의 NRE 배열과 상동성이 매우 높은 배열을 확인하였다(Konishi and Yanagisawa 2011b). 또한, 발현을 조절하는 DNA 배열은 프로모터가 존재하는 5' 영역뿐만 아니라 인트론 및 3'측 영역에도 존재한다고 보고하였다(Konishi and Yanagisawa 2011a). 애기장대의 경우에는 질산환원효소 *NIA1* 유전자가 NRE 배열의 3'측에 있는 인트론 영역으로부터 1.5 kb 하류에서 발견되었다(Konishi and Yanagisawa 2013a, b). 애기장대의 아질산 이온 수송체 관련 *NITR2-1*와 *NITR2-2* 유전자의 프로모터 영역은 *NIR1* 유전자의 NRE 배열과 높은 상동성 보였으며, 이

<i>AtNIR1</i>	-104	AGAAACA	ACTTGACCCTT	TACATTGCT	CAAGAGCTCATCTCTT	-62
<i>HoNIR</i>	-233	ACATACAAA	ATGACCCTT	AACCATGTCC	AAGAGTCCCCTCTTA	-191
<i>ZmNIR</i>	-159	TGCGTCTGC	TGCCCCCTT	GAACTCCCC	AAGAGCCAAGAACCA	-117
<i>AtNITR2.1</i>	-1041	AATAATCAA	ATGACCTTT	CGTTTAA	TGGAAGAGACTTCGACCA	-999
<i>AtNITR2.2</i>	-591	TGTAATCCA	ATGACCTTT	CGACTGATCA	AAACAGACTCACCTTT	-549
<i>AtNIA1</i>	+5113	GATATGGT	TTTGACCCTT	GTAAGCACG	AAACAACGTTCTTTAG	+5071

Fig. 2 Alignment of the nitrate response element (NRE) sequence in plants. The red box shows the conserved region

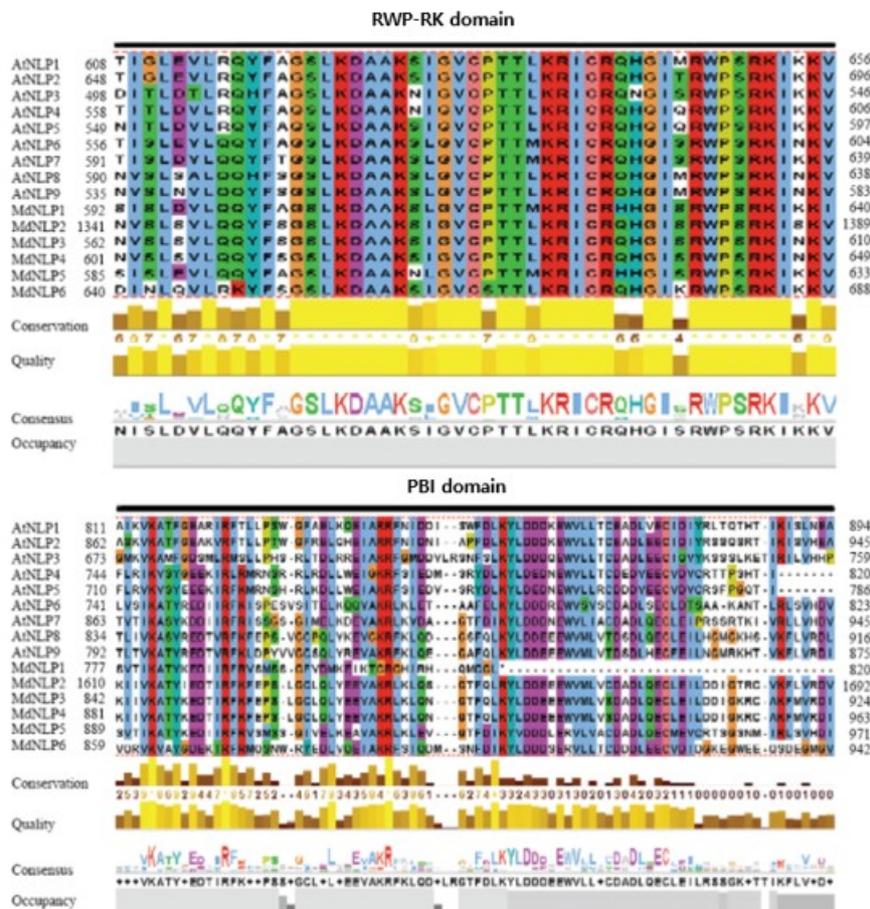


Fig. 3 Multi-sequence alignment and typical conserved domains of NLP proteins in plants

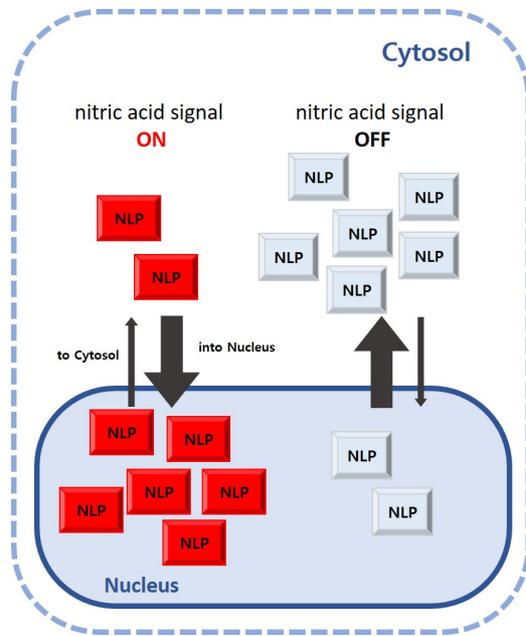


Fig. 4 A model of the accumulation of NLPs in the nucleus by nitrate signaling

들 배열이 질산 시그널 응답과 매우 관련이 있다고 하였다 (Maeda et al. 2014). 그러므로 NO₃⁻ 동화에 관련된 유전자 중 NO₃⁻의 환원부터 NO₂⁻의 환원까지 이어지는 과정에서 유전자 발현제어는 한 개의 공통 배열에 의해 일어나며, 공통 메커니즘으로 제어되고 있는 것을 시사한다.

몇몇 전사인자는 질산 응답을 제어한다

콩과 식물에서 근립 형성 초기에 반드시 필요한 NIN (Nodule inception) 인자로서, 최근 계통정보를 통해 근립을 형성하지 않는 식물에서도 NIN과 상동성 있는 것이 알려지면서 NLP (NIN-like protein)로 명명되었다 (Schauser et al. 2005). NLP 관련 유전자는 식물에서 복수로 존재하고 있고, 애기장대는 9개, 벼는 4개가 존재한다 (Castaings et al. 2009; Hoff et al. 1994). 그중에서 애기장대 NLP7 유전자에 T-DNA가 삽입된 결실 돌연변이체에서 질산환원효소 유전자와 질산 수송체 유전자의 발현이 저하되었으며, 지상부/지하부 비율에 차이를 보임에 따라, 이 유전자가 질산 시그널에 응답한다고 하였다 (Castaings et al. 2009; Hoff et al. 1994; Krapp et al. 2014; Wang et al. 2009). NIR1 유전자의 NRE 배열에 결합하는 전사인자의 여부를 확인하기 위해 yeast two hybridization 실험을 수행한 결과 NLP가 NRE 배열에 결합하여 전사를 촉진한다고 보고하였다 (Konishi and Yanagisawa 2013a, 2014). NLP는 약 90 kDa이며, 아미노산 레벨을 살펴볼 때 N말단(아미노 말단) 측에 높은 상동성을 보이는 도메인이 있으며, 단백질 중앙에는 RWP-RK 도메인이 있고, 그리고 C말단(카르복실 말단) 측에 PB1 도메인이 존재한다 (Fig. 3). 그리고 RWP-RK 도메

인은 NRE 배열로 DNA와 특이적으로 결합한다. 그리고 N말단 측에 존재하는 도메인은 NLP의 질산응답에 관련이 있으며, PB1 도메인은 단백질과 단백질 상호작용을 한다 (Konishi and Yanagisawa 2013a). NLP 관련 유전자에서 가장 중요한 N말단 측에 존재하는 도메인의 기능은 질산 시그널 수신기능과 전사촉진기능을 담당하고 있다 (Konishi and Yanagisawa 2013b). 식물 세포에서 전사인자로 알려진 NLP7은 NO₃⁻ 첨가에 따라 질산 유도에 의해 발현하는 유전자들의 근처에서 결합한다고 크로마틴 면역 침강법을 이용한 계층 해석을 통해 확인되었다 (Almeida et al. 2017; Castaings et al. 2009; Marchive et al. 2013). 따라서 NLP 관련 전사인자 질산 시그널에 응답한 유전자 발현 전체를 직접적으로 조절하고 있다고 생각된다. NLP6 전사인자의 발현을 제어한 변이체에서는 질산환원효소, 아질산환원효소, NO₃⁻의 동화 관련 유전자들의 발현이 억제되었다고 하였다 (Wu et al. 2020). 그러나 질산환원효소 변이체의 생육은 NO₃⁻와 NH₄⁺을 질소원으로 사용한 경우에 회복되었으며, NLP6 전사인자의 발현을 제어한 변이체의 생육은 회복되지 않았다 (Scheible et al. 2004; Wu et al. 2020; Yu et al. 2020). 따라서, 식물 생장을 정상적으로 하기 위해서는 질산 경로 및 NLP 반응이 매우 중요하다고 생각된다.

세포질과 세포핵 간의 물질 수송은 핵막공을 통하여 이루어지지만, 일반적으로 40 kDa 보다 작은 단백질은 자유롭게 핵막공을 통과하여 세포질과 핵에 확산된다 (Fig. 4). 그러나 40 kDa 보다 큰 단백질은 핵막공을 통과하기 위해 능동적인 수송이 필요하다. 그러므로 NLP7은 NO₃⁻가 없는 상태에서도 통상적으로 핵내로 이행함과 동시에 적극적으로 세포질로 배출되고 있다. 질산 시그널이 전달되면 세포핵에서 세포질로 NLP7 배출이 억제되기 때문에 세포핵에 축적된다 (Marchive et al. 2013) (Fig. 5). 따라서 NLP 단백질의 핵외수송의 제어기구에 대한 연구는 질산 시그널에 의한 NLP 활성화 작용 기구를 이해하기 위한 중요한 열쇠가 될 것으로 생각한다. 또한, 질산 시그널에 의한 유전자 발현 유도에 Ca²⁺이 필수적이라고 하였다 (Sakakibara et al. 1996). Riveras 등 (2015)은 NO₃⁻ 첨가하면 질산 유도성 유전자가 발현되어 세포질의 Ca²⁺ 농도가 증가 되었다고 보고하였다. 이는 Ca²⁺이 second messenger로서 역할을 담당할 뿐만 아니라 질산 시그널에 의한 유전자 발현 유도에 필수적이라고 생각한다. Liu 등 (2017)은 칼슘센서를 발현시킨 식물을 사용하여 질산이온이 1분 안에 세포 내 칼슘이온 농도를 증가시키고, 칼슘이온센서 키나아제 (CPK)를 활성화하여, 활성화된 CPK가 NLP6 및 NLP7을 인산화한다고 하였다 (Fig. 5). NLP7 인산화는 질산이온에 의존적인 전사인자의 위치 변화(세포질에서 세포핵으로 이행)를 하는데 필수적인 요소로 생각된다. 따라서 질산 유도성 유전자, Ca²⁺ 시그널링 유전자, NLP 관련 전사인자 등이 분자레벨에서 어떤 연결고리를 갖고 있을까?에 대한 궁금증이 생기며 이에 대한 진보된 연구를 기대해 본다.

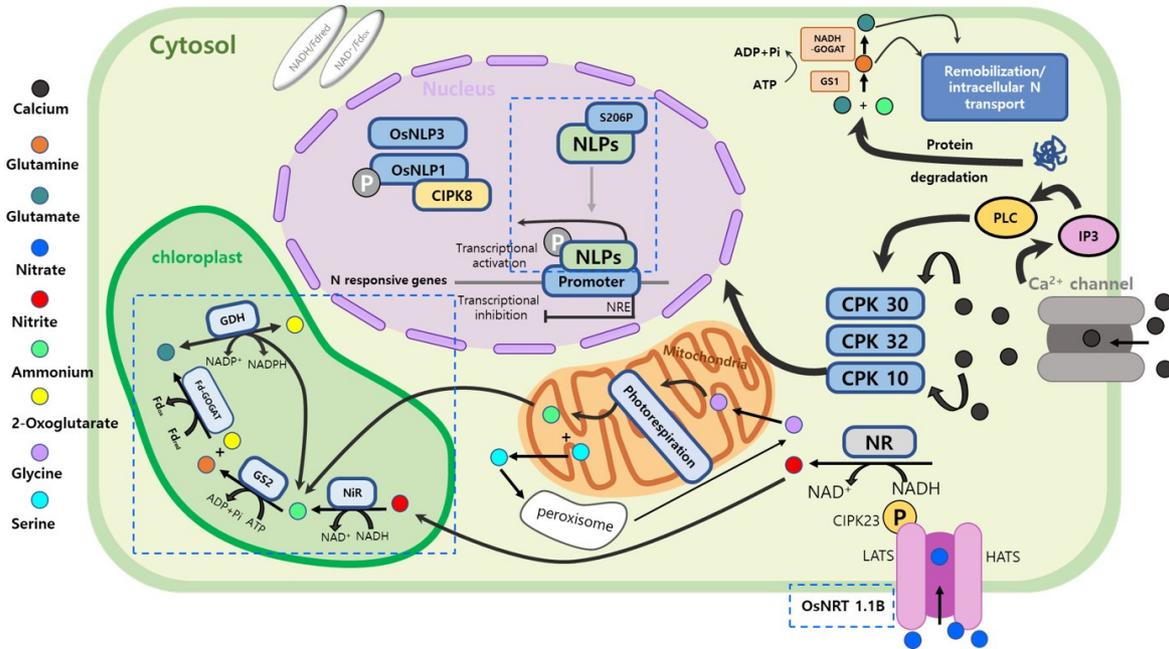


Fig. 5 The nitrogen-induced gene expression regulation pathway. The NODULE-INCEPTION-LikeProteins(NLP) transcription factor group includes nitrate reactive cis-element (NRE) binding proteins, which operate as transcriptional activators in the nitrate-regulated expression of downstream genes. Under a high nitrate external concentration, the nitrate absorption operates through the RNRT1 / NPF series of the nitrate carrier (LAT). Rice LAT is involved in the uptake of root nitrate by *NRT1.1B*. *CPK10*, *CPK30*, and *CPK32* act as major calcium mediators in primary nitrate reactions. They are involved in the regulation of primary nitrate reactions and downstream signaling. NLP binds to NRE to play an important role in nitrate signaling and nitrate-regulated gene expression. Nitrate-CPK-NLP networks are involved in nitrate signaling, where phosphorylation of NLP is important. Nitrate assimilation (NR) regulates the expression of nitrate transporters and other related genes (*OsNLA*, *OsNIR*, *OsGS*, *OsNADH-GOGAT*, *OaFd-GOGAT*, and *OsGDH*)

적요

질산염은 많은 유전자의 발현을 조절하고 생장과 발육과정에서 매우 중요한 영양소이자 시그널 분자이다. 본 연구는 고등식물에서 질산 신호에 의한 유전자 발현 제어 관련 전사인자의 연구 현황을 소개하고자 한다. 질산 환원 효소는 질소 동화 경로상의 효소이며, 질산이온을 아질산이온으로 환원하는 과정을 촉매한다. 질산이온, 빛, 대사산물, 식물호르몬, 저온, 가뭄 등의 여러 요인이 질산 환원 효소 유전자의 발현 수준과 생리적 역할과 같은 질산 환원 효소 활성을 조절한다. 최근 질산 환원 효소 유전자의 발현 제어에 관여하고 있는 몇몇 전사인자들이 식물에서 분리되었다. NODULE-INCEPTION-like proteins (NLPs)는 질산 환원 효소 유전자의 질산 유도성 발현에 관여하는 전사인자이다. NLPs는 질산 수송체, 아질산 수송체, 아질산 환원 효소에 관련된 유전자의 질산 유도성 발현을 제어한다. 질산 환원 경로와 관련된 유전자의 발현 수준은 질산에 반응하여 NLPs에 의해 협조적으로 조절된다. 따라서 식물에서 질산염의 기능을 이해하면 질소 사용량이 적은 작물을 육성할 수 있다.

사사

본 연구는 2021년도 농촌진흥청 신육종기술실용화사업단(과제번호: PJ01477203)의 지원으로 수행되었음.

References

- Almeida DM, Gregorio GB, Oliveira MM, Saibo NJM (2017) Five novel transcription factors as potential regulators of *OsNHX1* gene expression in a salt tolerant rice genotype. *Plant Mol Biol*. 93:61-77
- Castaigns L, Camargo A, Pocholle D, Gaudon V, Texier Y, Boutet-Mercey S, Krapp A (2009) The nodule inception-like protein 7 modulates nitrate sensing and metabolism in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 57:426-435
- Chardin C, Girin T, Roudier F, Meyer C, Krapp A (2014) The plant RWP-RK transcription factors: key regulators of nitrogen responses and of gametophyte development. *J. Exp. Bot*. 65:5577-5587
- Cheng CL, Dewdney J, Kleinhofs A, Goodman HM (1986) Cloning and nitrate induction of nitrate reductase mRNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83:6825-6828

- Crawford NM (1995) Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell* 7:859–868
- Deng M, Moureaux T, Caboche M (1989) Tungstate, a molybdate analog inactivating nitrate reductase, deregulates the expression of the nitrate reductase structural gene. *Plant Physiology* 91: 304–309
- Forde BG (2002) The role of long-distance signalling in plant responses to nitrate and other nutrients. *J. Exp. Bot.* 53:39–43
- Gowri G, Kenis JD, Ingemarsson B, Redinbaugh MG, Campbell WH (1992) Nitrate reductase transcript is expressed in the primary response of maize to environmental nitrate. *Plant molecular biology* 18:55–64
- Hilhorst HW, Karssen CM (1989) Nitrate reductase independent stimulation of seed germination in *Sisymbrium officinale* L. (hedge mustard) by light and nitrate. *Annals of Botany* 63:131–137
- Hoff T, Truong HN, Caboche M (1994) The use of mutants and transgenic plants to study nitrate assimilation. *Plant. Cell Environ.* 17:489–506
- Konishi M and Yanagisawa S (2010) Identification of a nitrate-responsive cis-element in the *Arabidopsis NRI* promoter defines the presence of multiple cis-regulatory elements for nitrogen response. *The Plant Journal* 63:269–282
- Konishi M, Yanagisawa S (2011a) Roles of the transcriptional regulation mediated by the nitrate-responsive cis-element in higher plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 411:708–713
- Konishi M, Yanagisawa S (2011b) The regulatory region controlling the nitrate-responsive expression of a nitrate reductase gene, NIA1, in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology* 52:824–836
- Konishi M, Yanagisawa S (2013a) An NLP-binding site in the 3'flanking region of the nitrate reductase gene confers nitrate-inducible expression in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Soil Science and Plant Nutrition* 59:612–620
- Konishi M, Yanagisawa S (2013b) *Arabidopsis* NIN-like transcription factors have a central role in nitrate signalling. *Nature communications* 4:1–9
- Konishi M, Yanagisawa S (2014) Emergence of a new step towards understanding the molecular mechanisms underlying nitrate-regulated gene expression. *J. Exp. Bot.* 65:5589–5600
- Krapp A, David LC, Chardin C, Girin T, Marmagne A, Leprince AS, et al. (2014) Nitrate transport and signalling in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 65:789–798
- Krouk G, Crawford NM, Coruzzi GM, Tsay YF (2010) Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13:265–272
- LaBrie ST, Wilkinson JQ, Crawford NM (1991) Effect of chlorate treatment on nitrate reductase and nitrite reductase gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant physiology* 97:873–879
- Landrein B, Formosa-Jordan P, Malivert A, Schuster C, Melnyk CW, Yang W, Jönsson H (2018) Nitrate modulates stem cell dynamics in *Arabidopsis* shoot meristems through cytokinins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115: 1382–1387
- Liu KH, Niu Y, Konishi M, Wu Y, Du H, Sun Chung H, et al. (2017) Discovery of nitrate-CPK-NLP signalling in central nutrient-growth networks. *Nature* 545:311–316
- Maeda SI, Konishi M, Yanagisawa S, Omata T (2014) Nitrite transport activity of a novel HPP family protein conserved in cyanobacteria and chloroplasts. *Plant and Cell Physiol* 55: 1311–1324
- Marchive C, Roudier F, Castaigns L, Bréhaut V, Blondet E, Colot V, et al. (2013) Nuclear retention of the transcription factor *NLP7* orchestrates the early response to nitrate in plants. *Nat. Commun.* 4:1713
- Masclaux-Daubresse C, Daniel-Vedele F, Dechorgnat J, Chardon F, Gaufichon L, and Suzuki A (2010) Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture *Ann Bot.* 105:1141–1157
- Obertello M, Shrivastava S, Katari MS, Coruzzi GM (2015) Cross-species network analysis uncovers conserved nitrogen-regulated network modules in rice. *Plant physiology* 168:1830–1843
- Pouteau S, Cherel I, Vaucheret H, Caboche M (1989) Nitrate reductase mRNA regulation in *Nicotiana plumbaginifolia* nitrate reductase-deficient mutants. *The Plant Cell* 1:1111–1120
- Redinbaugh MG, Campbell WH (1993) Glutamine synthetase and ferredoxin-dependent glutamate synthase expression in the maize (*Zea mays*) root primary response to nitrate (evidence for an organ-specific response). *Plant physiology* 101:1249–1255
- Riveras E, Alvarez JM, Vidal EA, Oses C, Vega A, Gutiérrez RA (2015) The calcium ion is a second messenger in the nitrate signaling pathway of *Arabidopsis*. *Plant physiology* 169: 1397–1404
- Sakakibara H, Takei K, Sugiyama T (1996) Isolation and characterization of a cDNA that encodes maize uroporphyrinogen III methyltransferase, an enzyme involved in the synthesis of siroheme, which is a prosthetic group of nitrite reductase. *The Plant Journal* 10:883–892
- Schauser L, Wieloch W, Stougaard J (2005) Evolution of NIN-Like Proteins in *Arabidopsis*, Rice, and *Lotus japonicus*. *J. Mol. Evol.* 60:229–237
- Scheible WR, Gonzalez-Fontes A, Lauerer M, Muller-Rober B, Caboche M, Stitt M (1997) Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *The Plant Cell* 9:783–798
- Scheible WR, Morcuende R, Czechowski T, Fritz C, Osuna D, Palacios-Rojas N, Stitt M (2004) Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen. *Plant physiology* 136: 2483–2499
- Schauser L, Roussis A, Stiller J, Stougaard J (1999) A plant regulator controlling development of symbiotic root nodules. *Nature*, 402:191–195
- Takei K, Sakakibara H, Taniguchi M and Sugiyama, T (2001) Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: Implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator. *Plant and Cell Physiology* 42:85–93
- Tang PS, Wu HY (1957) Adaptive formation of nitrate reductase in

- rice seedlings. *Nature* 179:1355-1356
- Tsay YF, Chiu CC, Tsai CB, Ho CH, Hsu PK (2007) Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS letters* 581:2290-2300
- Wang R, Okamoto M, Xing X, Crawford NM (2003) Microarray analysis of the nitrate response in *Arabidopsis* roots and shoots reveals over 1,000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. *Plant Physiol.* 132:556-567
- Wang R, Tischner R, Gutiérrez RA, Hoffman M, Xing X, Chen M, Crawford NM (2004) Genomic analysis of the nitrate response using a nitrate reductase-null mutant of *Arabidopsis*. *Plant physiology* 136:2512-2522
- Wang R, Xing X, Wang Y, Tran A, Crawford NM (2009) A genetic screen for nitrate regulatory mutants captures the nitrate transporter gene *NRT1.1*. *Plant Physiol.* 151:472-478
- Wu J, Zhang Z, Xia J, Alfatih A, Song Y, Huang Y (2020) Rice NIN-LIKE PROTEIN 4 plays a pivotal role in nitrogen use efficiency. *Plant Biotechnol. J pbi.* 13475
- Yan D, Easwaran V, Chau V, Okamoto M, Ierullo M, Kimura M, et al. (2016) NIN-like protein 8 is a master regulator of nitrate-promoted seed germination in *Arabidopsis*. *Nat. Commun.* 7:13179
- Yu J, Xuan J, Tian Y, Fan L, Sun J, Tang W (2020) Enhanced OsNLP4-OsNiR cascade confers nitrogen use efficiency by promoting tiller number in rice. *Plant Biotechnol. J.* 19:167-176
- Yu LH, Wu J, Tang H, Yuan Y, Wang SM, Wang YP, et al. (2016) Overexpression of *Arabidopsis* NLP7 improves plant growth under both nitrogen-limiting and -sufficient conditions by enhancing nitrogen and carbon assimilation. *Sci. Rep.* 6:27795
- Zhao L, Liu F, Crawford NM, Wang Y (2018) Molecular regulation of nitrate responses in plants. *International journal of molecular sciences* 19:2039