

참깨 myo-inositol 1-phosphate synthase 유전자의 특성과 기능분석에 관한 연구

진언호 · 천재안 · 정정한*

동아대학교 응용생명공학부 생명공학과

Characterization and functional analysis of a myo-inositol 1-phosphate synthase cDNA in sesame (*Sesamum indicum* L.)

Un-Ho Jin, Jae-An Chun and Chung-Han Chung *

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Bioscience, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Abstract

A cDNA (*SeMIPS*) encoding myo-inositol 1-phosphate synthase has been isolated from developing sesame (*Sesamum indicum* L. cv. Dan-Baek) seeds and its structure and function analyzed. The *SeMIPS* protein was highly homologous with those from plant species (88-94%), while a much lower degree of sequence homology (60%) was found with that of human. The functional domains commonly found in MIPS protein were identified and their amino acid residues were compared with each other. Northern blot indicated that the expression of the *SeMIPS* gene might be organ-specifically regulated. A complementation assay based on a yeast mutant system confirmed that the *SeMIPS* gene encodes a myo-inositol 1-phosphate synthase (MIPS) of sesame by showing functional expression of the *SeMIPS* cDNA in the yeast mutants containing the disrupted *INO1* gene.

Key words – Myo-inositol 1-phosphate synthase, inositol metabolism, sesame

서 론

Myo-inositol 1-phosphate synthase (MIPS)는 glucose 6-phosphate를 myo-inositol 1-phosphate로 전환시키는 효소로서 myo-inositol 및 그 유도체 합성과정의 첫 번째 반응단계에 관여하는 주요 조절효소이다(Fig. 1). MIPS에 의해 생성된 myo-inositol 1-phosphate는 inositol monophosphatase (IMP)에 의해 myo-inositol로 전환되어 인산기를

세포 내에 축적하는데 이용되거나, 세포 내 신호 전달 물질로써 작용하거나 혹은 스트레스 극복, 호르몬 항상성 유지 및 세포벽의 합성에 이용되는 등 다양한 기능을 담당하는 필수적인 물질로 사용된다[8,13]. 대부분의 진핵생물에서 MIPS 효소활성을 위해 보조인자로 NAD^+ 를 필요로 하기 때문에 MIPS의 아미노산 서열상에는 이 보조인자의 binding motif가 잘 보존되어 있으며[14], 식물에서는 세포질형 MIPS와 엽록체형 MIPS의 두 종류 MIPS가 보고되어있다. 엽록체형 MIPS는 틸라코이드막에 존재하고 있으며 빛에 의해 조절되는 MIPS이고, 세포질형 MIPS는 주로 세포질에 존재하며 다양한 대사 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 051-200-7583, Fax : 051-200-6536
E-mail : chchung@donga.ac.kr

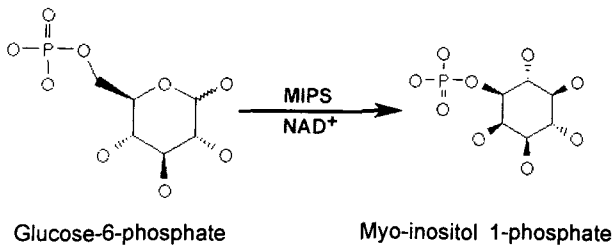


Fig. 1. The proposed function of myo-inositol 1-phosphate synthase.

[11,14,20,19]. 이 두 형태의 MIPS는 많은 식물 종으로부터 분리되어 그들의 유전자 구조가 밝혀져 있으며[10,11,20,19], 옥수수에서는 7종의 MIPS 유전자가 보고되었고[12], 대두에서는 적어도 4개의 유전자가 확인되었다[7].

최근의 연구들에 의하면 고등생물의 MIPS 유전자는 myo-inositol, 염분, hormone에 의해 발현이 조절되고 있음이 밝혀졌다[17]. 염분감수성 식물의 경우 각종 효소의 발현조절과 이온투과성 단백질, 삼투압 조절에 관련된 주요 단백질의 촉매 활성이 염분과 MIPS의 상호작용에 의해 억제됨으로써 식물체의 성장과 발육이 저해된다는 보고들이 발표되었다[2-4,18,23]. 이러한 작용 이외에 myo-inositol 및 그 유도체들이 합성될 때 염분에 의해 MIPS 유전자의 전사가 영향을 받는다는 사실이 밝혀졌다[15,16]. 또 다른 연구 그룹은 호염성 식물을 재료로 사용하는 경우 염분에 의해 MIPS 유전자의 전사가 오히려 증가되며, *Arabidopsis thaliana*와 같은 염분 감수성 식물에서는 반대로 낮아짐을 관찰했다[9]. 한편, MIPS와 IMP를 통해 생산된 myo-inositol은 inositol polyphosphate kinase에 의해 inositol polyphosphate로 전환되어 adenosine triphosphate (ATP)-dependent chromatin-remodeling complex를 변화시키고, 결과적으로 유전자의 전사조절에 관여한다는 연구 결과가 보고되기도 하였다[21]. 이러한 결과들을 통해 MIPS가 생물학적 및 비 생물학적 스트레스 저항성 뿐만 아니라, 2차 대사 산물의 생산과 조절 및 세포의 기능 유지 측면에서 중요한 역할을 맡고 있음이 밝혀지고 있다.

본 연구에서는 참깨 종자로부터 MIPS cDNA (*SeMIPS*)를 분리하여 그 유전자의 구조와 MIPS 단백질의 특성을 분석함과 동시에 효모 돌연변이체를 이용한 효소 활성 시험을 통해 그 기능을 규명하였으며, 이들의 연구결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

식물 재료

참깨 (*Sesame indicum* L. cv. Danbaek) 종자를 작물 시험장에서 공급받아서 과종하여 실험재료를 확보하였다. 종자 발육단계별로 종자를 수확하기 위하여 참깨 개화 후 12일째부터 3일 간격으로 종자를 채취하였으며, 잎과 줄기 및 뿌리 등의 다른 조직은 한창 성장하는 참깨로부터 수확하였다. 수확된 종자와 식물 조직은 즉시 액체질소에 급냉시킨 후 초저온 냉동고에 보관하여 사용하였다.

참깨 MIPS cDNA의 분리

참깨 종자 2 g을 액체질소로 마쇄한 후 5배 (10 ml)의 핵산 추출액을 가하여 추출하였다. Total RNA와 DNA의 분리는 정 등[5,6]에 의해서 개발된 참깨의 핵산 추출 방법으로 분리되었다[5,6]. Oligo-dT cellulose를 이용하여 분리된 mRNA 5 μ g을 사용하여 Stratagene사의 cDNA synthesis kit로 cDNA library를 구축하였다. 이 library를 사용하여 MIPS cDNA를 찾기 위해, 분리된 mRNA로부터 RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) 방법으로 약 600 bp의 MIPS cDNA 단편을 얻었다. Degenerate primer의 sense primer로는; 5'-TGGAC(T/G)GC (A/T)AA (C/T)AC(T/A)GA(A/G)(A/C)G(G/T/A)TA(C/T)-3'를 사용하였고, antisense primer로는; 5'-(G/A)GC(A/C/T)A (G/A)(G/T/A)A(G/A)(T/A)GA(G/A)TC(C/T)TC(A/G)TC(A/G)CA-3'를 사용하였다. 이 primer단편을 이용하여 cDNA library부터 plaque hybridization방법을 통해 참깨의 MIPS cDNA를 분리하였다.

DNA 염기 서열 결정과 서열정보 분석

선택된 cDNA의 염기서열을 분석하기 위해 자동 염기서열기인 ALFexpress (Pharmacia)를 이용하였다. 염기서열은 ClustalW 프로그램 제공 웹사이트(<http://www.clustalw.genome.ad.jp>)를 이용하여 다른 종에서 분리된 MIPS 단백질 서열과의 유사성을 비교·분석하였다. 사용한 단백질은 GenBank에 등록된 자료를 이용하였으며, 자료로 이용된 종들은 다음과 같다. sesame (AF284065), tobacco (AB009881), rice (AB012107), maize (AF056326), human (AF220530). 그 외 단백질의 구조와 특성 분석 등 bioinformatics data는

http://www.cbs.dtu.dk와 http://pedant.gsf.de 및 http://blocks.fhcrc.org 등의 웹사이트를 통해 분석하였다.

Northern analysis

완숙종자, 잎, 줄기 뿌리로부터 각각 분리된 20 µg의 RNA를 15% formaldehyde가 포함된 0.8% 아가로스젤에서 전기영동한 후에 nylon membrane에 흡착시켜 사용하였다. 사용한 probe는 분리된 *SeMIPS* cDNA 전체를 이용하였고, hybridization buffer의 조성은 2×PIPES, 50% formamide, 1% SDS, 2% blocking reagent (Roche Diagnostics GmbH)로 조성된 버퍼를 사용하였다. hybridization은 42°C에서, 그리고 washing은 0.2×SSC를 이용하여 60°C에서 실시하였다.

Yeast 돌연변이체를 이용한 활성 검증

분리된 *SeMIPS* cDNA의 *EcoR* I - *Xho* I 단편과 *EcoR* I - *Cla* I 단편을 각각 yeast expression vector pRS426GPD [22]에 삽입 후에 inositol 요구주 돌연변이체인 SH306 균주 (*ino1*, *ura*)에 형질전환시켜 그 효소활성 여부를 확인하였다. SH306 균주는 YPD 배지에서 배양 후 사용하였으며, 형질전환체는 vector의 selection marker (*URA3*)를 통해 선별하였으며, inositol 합성 여부는 inositol assay medium system (Difco)배양에 의해서 확인되었다[1].

결과 및 고찰

SeMIPS cDNA의 분리와 구조분석

참깨의 발육종자에서 Plaque hybridization 방법을 통해 선별된 6개의 cDNA clone 중에서 가장 큰 cDNA 단편을 선별하여 염기배열을 분석한 결과 그 크기는 1845 bp이었으며, 나머지 5개의 clone들 역시 이 cDNA sequence에 정확하게 일치하는 것으로 확인되었고, 이 cDNA를 *SeMIPS*로 명명하였다. 이 cDNA의 open reading frame (ORF)은 510개 아미노산을 암호화하고 있는 것으로 추측되었으며, 이 cDNA에 의해서 합성되는 *SeMIPS* 단백질의 크기는 약 56 KDa으로써 다른 종에서 분리된 MIPS 단백질의 크기와 유사하였다. *SeMIPS* 단백질의 3'-말단에는 poly (A) 꼬리에서부터 24 bp와 39 bp 상류에 각각 polyadenylation signal (AATAAA)이 존재하였다(Fig. 2).

1	CGGCACGAGCTCCTCTTCTCTCAAAACACAGCAAAGAAAGAAACGAAA	50
51	ATGTTTATCGAGAGCTTCAAGGTTGAGAGCCCAATGTCAAGTACACCGAGGGTGAGATT	110
1	M F I E S F K V E S P N V K Y T E G E I	20
111	CACTCTGTCTACAACACTACGAGACTACAGAGCTTGTTCATGAGAGCAGAAACGGCACCTAC	170
21	H S V Y N Y E T T E L V H E S R N G T Y	40
171	CAATGGATTGTCAAGCCAAAGACTGTCAAAATACGAGTTCAAAAGTACTCATGTGCCCC	230
41	Q W I V K P K T V K Y E F K T D T H V P	60
231	AAATTAGGGGTCAAGCTTGTGGATGGGGAGGAAACAATGGTTCACCTCTCACTGGCGGT	290
61	K L G V M L V <u>G W G G N N G</u> S T L T G G	80
291	GTCATTGAAACACGGGAAGGATTTTCATGGGCAACAAGGATTAAGGTGCAACAGGCCAAT	350
81	V I A N R E G I S W A T K D K V Q Q A N	100
351	TATTTGGGTCAGTACAGGACAGGACCTCAATCAGAGTGTGGTTCCTCAATGGAGAAGAG	410
101	Y F G S L T Q A S S I R V G S F N G E D	120
411	ATCTATGCCCCCTCAAAGCCTTCTCCCATGGTCAACCAGATGACGTAGTGTGGG	470
121	I Y A P F K S L L P M V N P D D V V F G	140
471	GGATGGACATCAGCAATATGAATTTGGCTGATGCCATGGGACGGGCAAGGTTGATAGAT	530
141	G W D I S N M N L A D A M G R A K V L D	160
531	ATTGATCTCCAGAAGCAGCTCAGGCCCTACATGGAGCATGGTCCCACTCCCTGGAAATC	590
161	I D L Q K Q L R P Y M E H M V P L P G I	180
591	TACGATCCTGATTTTCATAGCCGCAATCAGGATCACGTCGCAACAACGATTAAGGA	650
181	Y D P D F I A A N Q G S R A N N V I K G	200
651	ACCAAGAAAGAAACAAGTTCACAGATCATCAAAGACATGAGGACTTTAAGGAGCAAAAT	710
201	T K K E Q V Q Q I I K D M R D F K E Q N	220
711	AAGTGGACAAGGTCGTAGTCTGTGGACAGCCAAACACAGAAAGATACAGTAAATGTTGTC	770
221	K V D K V V V L L W T A N T E R Y S N V V	240
771	GTTGGGCTAAACGATACAGCCGAAAGCCTGATGGCCTCGGTAGAGAGAAATGAGGCCGAG	830
241	V G L N D T A E S L M A S V E R N E A	260
831	ATATCTCCCTCAACCTTGTATGCCATAGCTTGTGTTTTGAAATGTTCCGTTCAATTAAT	890
261	I S P S T L Y A I A C V F E N V P F I L N	280
891	GGCAGCCACAAAATACTTTGTTCAGGTTGATGTTGTCGATTCAGGAAACAGT	950
281	<u>G S P Q N T F V P G L</u> I D L A I Q R N S	300
951	TTGATTGGTGGAGATTTCAAGAGCGGTCAACCAAGATGAAATCAGTGTAGTTGAT	1010
301	L I G G D D F K S G Q T K M K S V L V D	320
1011	TTCTTGTGGAGCTGGTATCAAGCCAAACGTCGATGTGAGCTATAATCATCTGGGAAAC	1070
321	F L V G A G I K P T S I V <u>S Y N H L G N</u>	340
1071	AACGCGGATGAATCTATCAGCACCACCAACTTTCGGTCCAAAGAGATTTCTAAAGC	1130
341	<u>N D G</u> M N L S A P Q T F R S F H S I S K S	360
1131	AATGTTGATGACGATGTTGCGCAACCGCATCCTTTATGAGCCTGTGTAACACCCC	1190
361	N V V D D M V A S N G I L Y E P G E H P	380
1191	GACCATATTGTGTATCAAGTATGTACCGTATGTGGGGACAGCAGAGGACAAATGGAC	1250
381	D H I V V I K Y V P Y V G D S K R A M D	400
1251	GAGTACACTTCGGAGATATTCTGGGAGGAAAAGTACCATAGTCTGACACACAGTGT	1310
401	E Y T S E I F M G G K S T I V L H N T C	420
1311	GAGACTCTCTTCTGGCTGCCATCATCTGGATTTGGTCTCTAGCTGAACTCAGC	1370
421	E D S L L A A P I I L D L V L L A E L S	440
1371	ACTCGTATTCAGCTCAAAGCCGAGGAGGGCAAAATCCATTCGTTCCACCCGGTGGCA	1430
441	T R I Q L K A E G E G K F H S F H P V A	460
1431	ACCATCCTCAGCTACCTAACCAAGCCCTCTTGTACCTCCAGGCACACCCGTCGTCAC	1490
461	T I L S Y L T K A P L V P P G T P V V N	480
1491	GCACTGTCTAAGCAGCTGCTCGAGAACATCTTGGGGCTTGTGTGGATTGGCT	1550
481	A L S K Q R A M L E N I L R A C V G L A	500
1551	CCAGAAAACAATATGATTTGGAAATACAAGTGAAGAAAAAATCATGTTGGGAATTGG	1610
501	P E N N M I L E Y K †	510
1611	ACAACGGGCAAGGACAGGACACCCGTCGTTGTTCTGCTAGCTTTGGTATTTCCT	1670
1671	TGTAAGCGTAGTACTGGAGTTAGTGTTTTTCCTTTTGTATGTAGTGAATAATGGAT	1730
1731	TGAAGTGTATTTACTGTTAAGTAGTGTCTATGCATAAAATTTTATTGTTTAAAGTAAAT	1790
1791	AAATGATGTGATAATAAAGAAATCAAAATTCATCTTAAAAAATAAAAAAAAAA	1845

Fig. 2. The nucleotide and deduced amino acid sequences of the sesame myo-inositol 1-phosphate synthase (*SeMIPS*) cDNA. The conserved sequences of the four functional domains are boxed rectangles. The termination codon is marked by a cross (†). The putative polyadenylation signal sequences are underlined.

그리고 참깨에서 분리된 *SeMIPS* cDNA에 의해서 합성 될 것으로 추정되는 MIPS의 아미노산 잔기들의 구성으로 볼 때 *SeMIPS*는 세포질형 MIPS로 예상되었다. 그 이유는 세포 소기관 또는 엽록체로 향하는 신호펩타이드의 아미노산 잔기들이 N-말단에 존재하고 있지 않을 뿐 아니라, 다른 식물의 세포질형 MIPS의 아미노산 잔기들과의 서열 유사성이 상당히 높다는 점이 그러한 예상을 뒷받침해 주었다(<http://www.cbs.dtu.dk>). 그리고 아미노산 배열의 유사성을 비교한 결과 *tabacco*, *maize*, *rice* 등 다른 식물 중의 MIPS와는 88-94%의 동일성과 94-97%의 유사성을 가지고 있었으며, *human* MIPS와는 다소 낮은 60%의 아미노산 배열의 동일성과 77%의 유사성을 나타내었다(Fig. 3). 그리고 *SeMIPS* 단백질에는 네 종류의 특징적인 domain이 잘 보존되어 있다는 사실이 확인되었으며(Fig. 2), 이 domain들의 아미노산 구성은 GWGGNNG (domain 1), LWTANTERY (domain 2), NGSPQNTFVPL (domain 3), SYNHLGNNDG (domain 4)로 구성되어 있었다. 이 영역들은 NAD^+ 보조인자가 MIPS와 결합하여 이 효소의 촉매 반응에 관여하는 중요한 영역이라 추측되었다[1,14]. 따라서 참깨에서 분리된 *SeMIPS*는 MIPS의 정상적인 활성을 가지고 있는 MIPS효소라는 간접적인 증거를 이들의 구조로부터 확인할 수 있었다.

참깨 조직별 MIPS의 발현

참깨 조직별 MIPS 유전자 발현 정도를 알아보기 위해 northern blotting 분석을 실시하였다. 조직은 재료 및 방법에서 제시한 바와 같이 완숙종자, 잎, 줄기, 뿌리로 부터 동일한 조건에서 total RNA를 분리하였다. Fig. 4에서 보여주는 바와 같이 *SeMIPS*의 발현정도는 종자, 줄기 및 뿌리에서보다는 잎에서 상대적으로 많음이 확인되었다. 종자의 발육 단계에 따른 *SeMIPS*의 발현은 종자형성 초기부터 완숙 전 단계까지 일정한 발현 패턴을 보이다가 완숙 단계(꽃 핀 후 4주 이후)에서는 현저히 줄어드는 양상을 예비실험 결과에서 얻었다. 따라서 이러한 연구결과들을 종합하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다. 첫 째는 MIPS 유전자의 발현은 식물의 어느 기관이나 조직에서도 작용하고 있다는 것이고, 둘째는 대사 작용이 활발한 기관이나 조직에서는 이 유전자의 발현작용이 더 활발하다는 것을 보여주는 것으로 사료되었으며, 셋 째는 MIPS가 식물의 대사

작용에 필수적이라는 사실을 간접적으로 입증해 주는 자료로 제시될 수 있었다.

Yeast 돌연변이체를 이용한 *SeMIPS*의 활성 검증

Yeast 돌연변이체를 이용한 효소 활성 검증은 특정 유전자를 돌연변이 시킨 후 분석하고자 하는 유전자를 형질 전환 한 다음 그 기능을 분석함으로써 목적하는 유전자의 기능을 증명하는 기술이다. 본 연구에서 사용한 SH306 효모 균주(*ino1, ura*)는 MIPS 유전자가 부분 결실되어 inositol을 공급해야만 배양되는 균주로써 inositol을 스스로 합성하는 능력을 상실한 효모이다. 따라서 *SeMIPS* cDNA의 활성 검증을 위하여 강력한 효모 과발현 벡터인 pRS426GPD를 이용하여 동일한 위치에 각각 *SeMIPS* cDNA의 *EcoR* I - *Xho* I 단편과 *EcoR* I - *Cla* I 단편을 삽입하여 pRS426GPD-*SeMIPS* 발현 벡터를 구축하였다(Fig. 5. A). 이것을 각각 SH306 효모 균주에 형질전환시켜 발현된 *SeMIPS*가 효모의 myo-inositol 1-phosphate synthase (INO1)의 기능을 대체할 수 있는지 여부를 검증하였다. 일단 inositol이 첨가된 uracil 결실 배지에서 형질전환효모를 선별한 후, inositol assay medium (Difco)에 재접종하여 3-4일 간 배양하였다. Fig. 5 B에서 보여주는 바와 같이 pRS426GPD-*SeMIPS* 벡터의 *EcoR* I - *Cla* I로 절단된 DNA 단편을 갖고 있는 형질전환효모는 MIPS (INO1)의 기능을 완벽히 보완하여 배지 상에서 성장하였다. 반면에 C-말단의 ^{491}N - ^{510}K 의 20 개 아미노산이 제거된 단백질을 암호화하는 pRS426GPD-*SeMIPS* 벡터의 *EcoR* I - *Xho* I로 절단된 DNA 단편을 가진 형질전환효모는 전혀 MIPS의 기능을 하지 못하여 배지에서 성장되지 않았다. 이러한 결과는 *SeMIPS*가 myo-inositol 1-phosphate synthase의 효소 활성을 가지고 있다는 증거일 뿐 아니라, 이 효소 반응에 있어 C-말단 영역의 아미노산 서열이 MIPS의 기능에 필수적 영역이라는 점을 암시하고 있다. 앞에서 언급된 아미노산 서열 이외에 MIPS의 활성에 직접적으로 영향을 미치는 특정 아미노산 영역에 관하여 보고된 바는 아직 없다. 특히 *SeMIPS*의 C-말단 영역은 phosphorylation 및 glycosylation 등의 변형이 예상되는 아미노산 서열을 포함하지 않고 있기 때문에 *SeMIPS*의 C-말단의 아미노산 잔기들의 역할에 대한 중요성이 본 실험에서 처음으로 제시되었다. 따라서 *SeMIPS* 활성에 있어 필수적이라 추측되는 C-말단 아미노산 서열의 역할을 보

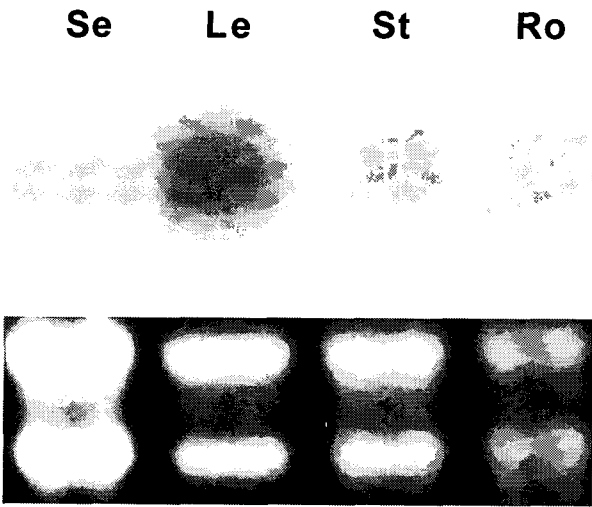


Fig. 4. Transcription of the *SeMIPS* gene in different organs of sesame. The full-length *SeMIPS* cDNA was used as a probe to hybridize total RNAs extracted from each tissue. Se, seed; Le, leaf; St, stem; Ro, root.

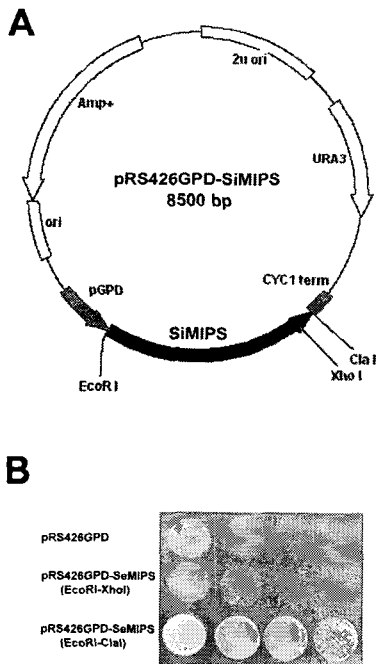


Fig. 5. Complementation analysis of the inositol auxotrophic yeast mutants, SH306 transformants. A schematic diagram of the yeast expression vector containing the *SeMIPS* (A). The growth of the SH306 transformants harboring the pRS426GPD-*SeMIPS* on the inositol lacking medium (B).

다 세밀하게 규명하기 위해서는 점돌연변이 방법 등을 통하여 이 아미노산 영역의 역할에 관한 추가 연구가 수행되어야 할 것이다.

요 약

1845 bp의 *SeMIPS* cDNA를 발육종자에서 분리하고 이 cDNA의 구조와 특성을 분석하였다. 이 cDNA는 엽록체로 향하는 신호펩타이드의 아미노산 서열이 존재하지 않아서 세포질형 MIPS로 예상되었다. 또한 이 cDNA의 아미노산 서열의 유사성은 다른 MIPS와 비교한 결과 60-94%의 높은 아미노산 서열 유사성을 보여주었으며, 특히 식물끼리의 유사성이 훨씬 높았다. Northern blot 분석에서 볼 때 참깨의 조직별 *SeMIPS* mRNA는 완숙종자, 줄기, 뿌리에서는 약하게 발현되었고, 잎에서는 비교적 강하게 발현되는 현상을 보여주었다. Yeast 돌연변이체를 통한 활성 시험에서는 *SeMIPS*가 myo-inositol 1-phosphate synthase의 효소 활성을 가지고 있다는 실험적 증거를 얻었으며, C-말단 아미노산 20개가 효소활성에 필수적이라는 사실이 본 실험에서 검증되었다.

감사의 글

본 연구는 2001년도 동아대학교 학술연구조성비(공모과제)에 의하여 수행되었음.

참 고 문 헌

1. Bachhawat N, Mande SC. 1999. Identification of the *INO1* gene of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv reveals a novel class of inositol-1-phosphate synthase enzyme. *J. Mol. Biol.* **29**, 531-536.
2. Blumwald E. 2000. Sodium transport and salt tolerance in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* **12**, 431-434.
3. Bohnert HJ and Sheveleva E. 1998. Plant stress adaptations-making metabolism move. *Curr. Opin. Plant Biol.* **1**, 267-274.
4. Burssens S, Himanen K, van de Cotte B, Beeckman T, Montagu MV, Inze D, and Verbruggen N. 2000. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in

- Arabidopsis thaliana*. *Planta* **211**, 632-640.
5. Chung CH, Kwon OC, Lee YM, Lee SY. 1996. An improved method for isolating high quality polysaccharide-free RNA from tenacious plant tissues. *Mol. Cells* **6**, 108-111.
 6. Chung CH, Kwon OC, Yi YB, Lee SY. 1998. Isolation of quality genomic DNA from tenacious seeds of sesame and perilla. *Plant Tissue Cult. Biotech.* **4**, 42-48.
 7. Hegeman CE, Good LL, and Grabau EA. 2001. Expression of D-myo-inositol 3-phosphate synthase in soybean. Implication for phytic acid biosynthesis. *Plant Physiol.* **125**, 1941-1948.
 8. Iqbal M. J., A. J. Afzal, S. Yaegashi, E. Ruben, K. Triwitayakorn, V. N. Njiti, R. Ashan, A. J. Wood, and D. A. Lightfoot. 2002. A pyramid of loci for partial resistance to *Fusarium solani* f. sp. *glycines* maintains myo-inositol 1-phosphate synthase expression in soybean roots. *Theor. Appl. Genet.* **105**, 1115-1123.
 9. Ishitani M, Majumder AL, Bornhouser A, Michalowski CB, Jensen RG, Bohnert HJ. 1996. Coordinate transcriptional induction of myo-inositol metabolism during environmental stress. *Plant J.* **9**, 537-548.
 10. Johnson MD, Sussex IM. 1995. 1L-myo-inositol 1-phosphate synthase from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* **107**, 613-619.
 11. Johnson MD and Wang X. 1996. Differentially expressed forms of 1L-myo-inositol 1-phosphate synthase (EC 5.5.1.4) in *Phaseolus vulgaris*. *J. Biol. Chem.* **271**, 17215-17218.
 12. Larson SR and Raboy V. 1999. Linkage mapping of maize and barley myo-inositol 1-phosphate synthase DNA sequences: correspondence with a *low phytic acid* mutation. *Theor. Appl. Genet.* **99**, 27-36.
 13. Loewus FA and Murthy PPN. 2000. myo-inositol metabolism in plants. *Plant Sci.* **150**, 1-19.
 14. Majumder AL, Johnson MD, and Henry SA. 1997. 1L-myo-inositol 1-phosphate synthase. *Biochim. Biophys. Acta* **1348**, 245-256.
 15. Nelson DE, Koukoumanos M, Bohnert HJ. 1999. Myo-inositol-dependent sodium uptake in ice plant. *Plant Physiol.* **119**, 165-172.
 16. Nelson DE, Rammesmayr G, Bohnert HJ. 1998. Regulation of cell-specific inositol metabolism and transport in plant salinity tolerance. *Plant Cell* **10**, 753-764.
 17. Park DK, Jeong SY, Lee SS, Park SH, Kim JI, and Yim JB. 2000. Molecular characterization of *Drosophila melanogaster* myo-inositol 1-phosphate synthase. *Biochim. Biophys. Acta* **1494**, 277-281.
 18. Quesada V, Ponce MR, Micol JL. 2000. Genetic analysis of salt-tolerant mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **154**, 421-436.
 19. RayChaudhuri A, Hait NC, DasGupta S, Bhaduri TJ, Deb R, Majumder AL. 1997. L-myo-Inositol 1-phosphate synthase from plant sources. *Plant Physiol.* **115**, 727-736.
 20. RayChaudhuri A, Majumder AL. 1996. Salinity-induced enhancement of L-myo-inositol 1-phosphate synthase in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Environ.* **19**, 37-1442.
 21. Shen X, Xiao H, Ranallo R, Wu WH, Wu C. 2003. Modulation of ATP-dependent chromatin-remodeling complexes by inositol polyphosphates. *Science* **3**; **299** (5603), 112-114.
 22. Tomas W. Christianson, et al. 1992. Multifunctional yeast high-copy number shuttle vector. *Gene.* **110**, 119-122.
 23. Wei JZ, Tirajoh A, Effendy J, Plant AL. 2000. Characterization of salt-induced changes in gene expression in tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots and the role played by abscisic acid. *Plant Sci.* **159**, 135-148.

(Received May 7, 2003; Accepted July 25, 2003)