

## Regulation of Abiotic Stress Response by Alternative Splicing in Plants

Hye-Yeon Seok<sup>1</sup>, Sun-Young Lee<sup>2</sup> and Yong-Hwan Moon<sup>1,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Systems Biology, Pusan National University, Busan 46241, Korea

<sup>2</sup>Biological Systems and Engineering Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720, USA

<sup>3</sup>Department of Integrated Biological Science, Pusan National University, Busan 46241, Korea

<sup>4</sup>Department of Molecular Biology, Pusan National University, Busan 46241, Korea

Received May 4, 2020 / Revised June 5, 2020 / Accepted June 5, 2020

Pre-mRNA splicing is a crucial step for the expression of information encoded in eukaryotic genomes. Alternative splicing occurs when splice sites are differentially recognized and more than one transcript and potentially multiple proteins are generated from the same pre-mRNA. The decision on which splice sites are selected under particular cellular conditions is determined by the interaction of proteins, globally designated as splicing factors, that guide spliceosomal components, and thereby the spliceosome, to their respective splice sites. Abiotic stresses such as heat, cold, salt, drought, and hypoxia markedly alter alternative splicing patterns in plants, and these splicing events implement changes in gene expression for adaptive responses to adverse environments. Alteration of the expression or activity of splicing factors results in alternative splicing under cold, heat, salt, or drought conditions, and alternatively spliced isoforms respond distinctly in several aspects such as expression in different tissues or degradation via nonsense-mediated decay. Spliced isoforms may vary in their subcellular localization or have different biological functions under stress conditions. Despite numerous studies, functional analyses of alternative splicing have been limited to particular abiotic stresses; the molecular mechanism of alternative splicing in abiotic stress response remains uncovered which suggests that further studies are needed in this area.

**Key words** : Abiotic stress, alternative splicing, plant, splicing factor, signaling

### 서 론

Precursor-mRNA (pre-mRNA)의 스플라이싱(splicing)은 진핵생물의 암호화된 유전체 정보의 적절한 발현과 단백질의 다양성 확보에 매우 중요한 역할을 한다. 이 과정은 pre-mRNA의 스플라이싱 위치(splice site)라고 불리는 서열을 인식하는 스플라이소솜(spliceosome)이라는 거대분자 복합체에 의해 이루어지며 비번역 인트론을 제거하고 주위의 엑손을 서로 연결하여 성숙한 전사체를 형성하게 된다[7, 29].

선택적 스플라이싱(alternative splicing)은 스플라이싱 위치가 서로 다르게 인식될 때 발생하며 동일한 pre-mRNA로부터 둘 이상의 전사체와 단백질을 생성할 수 있다[47]. 선택적 스플라이싱은 어떤 유전자의 조직별 차등 발현, 발달 단계별 차등 발현, 외부 및 내부 환경에 대한 세포의 유전자 발현 조절, 그리고 한 유전자로부터 합성되는 단백질의 다양성을 높

이는데 있어서 중요한 기전으로 작용한다[31]. 이 과정은 스플라이싱 조절에 관여하는 서로 다른 스플라이싱 인자(splicing factor)가 pre-mRNA의 인트론 또는 엑손의 스플라이싱 증폭(enhancer) 또는 억제(suppressor) 서열에 결합하여 서로 다른 스플라이싱 위치로 스플라이소솜을 이끌어 발생하게 된다[67]. 선택적 스플라이싱은 유전체의 번역 능력을 증대시키는데 조직과 발달 단계, 환경 조건에 따라 다르지만 실제로 인간(*Homo sapiens*)에서는 95% 이상의 전사체가 선택적 스플라이싱에 의해 생성되며 식물에서는 상대적으로 늦게 알려지긴 했지만 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)의 경우 약 61%, 대두(*Glycine max*)는 약 52%, 면화(*Gossypium hirsutum*)는 약 40%, 옥수수(*Zea mays*)는 약 40%, 벼(*Oryza sativa*)는 약 33%의 인트론을 가지는 유전자가 선택적 스플라이싱에 의해 조절된다고 밝혀졌다[4, 33, 41, 42, 57, 60, 71].

고염, 건조, 저온, 고온, 저산소를 비롯한 다양한 환경 스트레스는 식물의 성장과 발달을 저해하며 전세계적으로 작물의 생산량을 감소시키는 주요 원인이다. 이러한 스트레스에 반응하여 식물은 다양한 생리적, 생화학적 변화를 겪으며 스트레스에 대한 저항성을 나타낸다. 지금까지 다양한 신호전달 조절 경로, 스트레스 반응 유전자 및 전사인자가 환경 스트레스 반응에 관여하는 것으로 밝혀졌다[45].

최근 연구에 의하면 환경 스트레스에 의해서도 식물에서

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2592, Fax : +82-51-513-9258

E-mail : moonyh@pusan.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

많은 유전자의 선택적 스플라이싱이 나타나는 것이 알려졌다. 예를 들면 고염 스트레스에 의해 약 6,000개 이상의 애기장대 유전자의 스플라이싱이 변하였으며 포도(*Vitis vinifera*)에서는 1,000개 이상의 유전자에서 스플라이싱이 변하였다. 이러한 결과는 스트레스에 의해 변화된 유전체의 다양성을 보여준다 [13, 23].

본 논문에서는 식물의 환경 스트레스 반응에 있어서 선택적 스플라이싱을 조절하는 스플라이싱 인자의 역할과 선택적 스플라이싱을 통해 생성된 여러 스플라이싱 이소형(splice isoforms)의 기능에 대해 살펴보고자 한다.

## 본 론

### 스플라이소솜과 스플라이싱 인자에 의한 선택적 스플라이싱의 조절

Pre-mRNA의 스플라이싱 조절에는 스플라이소솜이 핵심적인 역할을 한다. 스플라이소솜의 중심부는 5종류의 small nuclear ribonucleoprotein (U1, U2, U4, U5, U6 snRNP)과 정밀한 순서로 인트론에 결합하는 200개 이상의 스플라이소솜 연관 단백질로 구성되며, snRNP는 5가지 small nuclear uridine-rich RNA (U1, U2, U4, U5, U6 snRNA)로 구성되어 있다. U1, U2, U4, U5 snRNP의 중심 입자는 Sm 단백질로 구성되어 있는 반면, U6 snRNP는 Like Sm2 (Lsm2)-Lsm8 단백질을 가지고 있다[51, 58, 59, 64, 65]. 스플라이싱은 U1 snRNP가 5' 스플라이싱 위치에 결합하고 U2 auxiliary factor (U2AF)가 3' 스플라이싱 위치에 결합하면서 시작되는데, U2AF의 작은 서브유닛인 U2AF<sup>35</sup>는 인트론/엑손 경계에 결합하고 큰 서브유닛인 U2AF<sup>65</sup>는 인트론 내에 있는 피리미딘이 풍부한 부분인 피리미딘 연속서열(polypyrimidine tract)에 결합한다. 이후 U2 snRNP가 분기점에 결합하여 그전에 형성되어 있던 U4-U5-U6 snRNP 복합체를 인트론으로 결집시킨다. 그리고 주요 재배치와 U1과 U4 snRNP의 분리 이후 스플라이싱이 진행된다[58].

스플라이싱 위치의 결정은 인트론 또는 엑손의 *cis*-조절 요소(*cis*-regulatory elements)에 결합하여 스플라이싱을 활성화 또는 억제시키는 serine/arginine-rich (SR) 단백질, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP)에 해당하는 RNA-결합 단백질과 Cap-binding protein (CBP)을 포함하는 스플라이싱 인자가 스플라이소솜 요소를 이끌어내어 조절된다[31]. SR 단백질은 N-말단의 표적 RNA에 결합하는 하나 또는 두 개의 RNA recognition motif (RRM)와 C-말단의 단백질-단백질 상호작용에 관련되어 중심 스플라이소솜 요소를 스플라이싱 위치 근처로 결집시키는 arginine/serine-rich (RS) 도메인으로 알려진 구조를 가진다[11, 18]. hnRNP는 핵심 구조인 RRM 또는 K homology (KH) RNA-결합 도메인과 glycine-rich motif (GRM)나 arginine-glycine-glycine (RGG) box와 같

은 보조 도메인을 가지며 결합 위치에 따라 역할이 달라지는데 주로 스플라이싱 위치 결정에 억제인자(silencer)로 작용하는 것으로 알려져 있다[16, 63]. SR 단백질과 hnRNP 모두 스플라이싱 외에도 mRNA 수송, 번역 등과 같은 여러 전사 후 조절 단계에도 관련되어 있다[18, 36, 68].

진핵세포에서 선택적 스플라이싱은 크게 네 가지 방식이 알려져 있는데, 인트론 유지(intron retention, IR), 엑손 제거(exon skipping, ES), 선택적 5' 스플라이싱 위치(alternative 5' splice site, alternative 5'SS), 선택적 3' 스플라이싱 위치(alternative 3' splice site, alternative 3'SS)이다[31]. 식물에서는 IR이 가장 두드러지게 나타나며 포유류에서는 ES가 가장 자주 나타난다[31]. 선택적 스플라이싱에 의해 만들어진 단백질 이소형(isoform)은 단백질의 모든 기능적 측면에서 다양할 수 있으나 조기종결코돈(premature stop codon)을 포함하는 mRNA 이소형의 경우에는 넌센스-매개 분해(nonsense-mediated decay) 경로에 의해 분해가 되기도 한다[58].

환경 스트레스 조건에서 식물의 선택적 스플라이싱 조절은 식물이 환경 변화에 적응하기 위해 선택적 스플라이싱이 중심적인 역할을 하도록 하는 것으로 볼 수 있다[31, 46]. 실제로 이전에 알려진 스트레스 반응 조절 유전자의 선택적 스플라이싱에 의해 여러 스플라이싱 이소형을 형성하는 경우가 많으며, 활성화 또는 비활성화된 이소형의 비율을 조절하는 선택적 스플라이싱에 의해 환경 스트레스 반응에서 유전자 발현을 미세하게 조정하는 경우가 밝혀지고 있다[46, 58].

### 환경 스트레스 조건에서 스플라이싱을 조절하는 스플라이싱 인자

앞서 살펴본 것처럼 세포에는 pre-mRNA의 스플라이싱 조절에 관여하는 다양한 스플라이싱 인자가 존재하며, 스플라이싱 인자의 작용은 또 다른 여러 요소에 의해 조절된다. 그 중 환경 스트레스에 반응하여 기능을 하는 스플라이싱 인자는 지금까지 온도, 고염, 건조 스트레스 조건에서 작용하는 것들이 주로 알려져 있다(Table 1).

#### 온도 스트레스

식물은 주변 온도에 매우 민감하게 반응하고, 온도 변화에 따라 일주기 및 개화 시기 등을 조절하는 것으로 알려져 있다. 식물의 환경 스트레스 반응 중에서는 온도 스트레스에 의한 선택적 스플라이싱 조절 기작이 많이 연구되어 있다. 먼저, 고온 스트레스 조건에서는 DREB2A-HSFA3-HSPs로 이어지는 고온 스트레스 반응 경로가 잘 알려져 있다[54, 69]. 애기장대의 U5-snRNP-상호작용 단백질인 STABILIZED1 (STA1)은 고온 스트레스 조건에서 HSFA3 pre-mRNA의 스플라이싱에 관여하여 HSFA3의 특정 스플라이싱 이소형의 발현을 증가시키고, HSPs인 HSP23.6 및 HSA32의 pre-mRNA 스플라이싱도 조절하여 고온 스트레스 저항성에 관여한다[25]. 아울러, STA1

Table 1. Abiotic stress-responsive splicing factors in plants

Gene	Splicing factor	Plant species	Stress	Expression	Modification	Phenotype <sup>1</sup>	Reference
<i>STA1</i>	Spliceosome	Arabidopsis	Cold, heat	Increase under cold	N/A <sup>2</sup>	Mut: sensitive to cold and heat	[25, 32]
<i>SME1</i>	Spliceosome	Arabidopsis	Cold	Increase under cold	N/A	Mut: tolerant to cold	[19]
<i>LUC7</i>	Spliceosome	Arabidopsis	Cold, heat	N/A <sup>2</sup>	N/A	Mut: sensitive to cold and heat	[8]
<i>AtPRP40C</i>	Spliceosome	Arabidopsis	Salt	N/A	N/A	Mut: sensitive to salt	[17]
<i>AtU1A</i>	Spliceosome	Arabidopsis	Salt	Increase under salt	N/A	Mut: sensitive to salt	[15]
<i>OsRH42</i>	Spliceosome	Rice	Cold, heat	Increase under cold and heat	N/A	OX: sensitive to cold and heat Mut: sensitive to cold and heat	[37]
<i>SR45</i>	SR protein	Arabidopsis	Salt, drought	Increase under salt	N/A	Mut: sensitive to salt and drought	[1]
<i>BrSR45a</i>	SR protein	<i>Brassica rapa</i>	Drought	N/A	N/A	OX: tolerant to drought	[43]
<i>MeSR34</i>	SR protein	Cassava	Salt	N/A	N/A	OX: tolerant to salt	[14]
<i>RZ-1a</i>	hnRNP	Arabidopsis	Salt, drought	N/A	N/A	OX: sensitive to salt and drought Mut: tolerant to salt and drought	[28]
<i>GRP2</i>	hnRNP	Arabidopsis	Drought, cold	N/A	N/A	OX: tolerant to drought and cold Mut: sensitive to drought and cold	[27]
<i>GRP7</i>	hnRNP	Arabidopsis	Salt, drought, cold	N/A	N/A	OX: sensitive to salt and drought, tolerant to cold Mut: tolerant to salt and drought	[26]
<i>CBP20</i>	CBP	Arabidopsis	Salt	N/A	Dimerization	Mut: sensitive to salt	[30, 48]
<i>CBP80</i>	CBP	Arabidopsis	Salt	N/A	Dimerization	Mut: sensitive to salt	[20, 30]

<sup>1</sup>Mut, loss-of-function mutants; OX, overexpressing transgenic plants

<sup>2</sup>N/A, not available

의 발현은 저온 스트레스에 의해 증가하는 것이 잘 알려져 있는데 이를 통해 저온 스트레스 반응 유전자인 *COR15A*의 스플라이싱을 조절하여 저온 스트레스에 저항성에 관여하기도 한다[32]. 홍미류계도, *HSA3*, *HSP*, *COR15A* 모두 스트레스가 없는 정상 조건에서는 스플라이싱 과정에서 *STA1*의 조절을 받지 않았다[25, 32]. *sta1* 돌연변이체는 고온과 저온 스트레스 모두에 대해 야생형보다 민감한 표현형을 보였으며, 이는 *STA1*이 고온과 저온 모두에서 작용하는 스플라이싱 인자임을 시사한다[25, 32].

저온 스트레스 조건에서 작용하는 스플라이싱 인자로 애기장대의 Sm protein E1 (*SME1*)이 보고되었다[19]. 진핵생물에서 스플라이소솜의 중심부는 Sm 단백질 또는 Lsm2-Lsm8으로 구성된 Sm ring과 snRNP가 결합된 복합체로 구성되어 있

다[66]. *SME1*은 Sm ring을 구성하는 SmE 서브유닛의 상동체 중 하나이며, 저온 스트레스 조건에서 표적 pre-mRNA의 스플라이싱 활성을 조절하는 것으로 보고되었다[19]. 저온 스트레스 조건에서 *SME1*의 발현은 증가하며, 핵에 그 단백질이 축적된다[19]. *SME1*은 U1, U2, U4, U5 snRNA의 축적을 촉진시켜 표적 pre-mRNA의 스플라이싱을 조절함으로써 저온 스트레스 반응 조절에 관여한다[19]. *sme1* 돌연변이체는 야생형에 비해 더 높은 저항성을 보였는데, *sme1* 돌연변이체에서 일부 저온 스트레스 반응 유전자의 특정 스플라이싱 이소형이 증가하였음이 확인되었다[19]. *SME1*은 애기장대의 저온 스트레스 반응뿐만 아니라 발달 조절에도 관여하는데, *sme1* 돌연변이체는 자엽, 잎, 잎맥, 잎의 분비모, 뿌리 등에서 표현형을 보였으며 개화 시기도 더 빨라졌다[19].

저온 또는 고온 스트레스 조건에서 정상 조건에서와는 다른 스플라이싱 활성을 보이는 스플라이싱 인자도 보고되었다. 애기장대의 U1 snRNP 부속 단백질인 LETHAL UNLESS CBC7 (LUC7)은 정상 조건에서 주로 표적 유전자의 마지막 인트론의 스플라이싱을 촉진하며, 인트론이 제거된 mRNA는 세포질로 이동하여 넨센스-매개 분해가 일어나 표적 단백질의 합성이 일어나지 않는다[8]. 반면, 저온 또는 고온 스트레스 조건에서는 LUC7에 의한 표적 유전자의 마지막 인트론 스플라이싱이 저해되고, mRNA의 넨센스-매개 분해가 일어나지 않아, 표적 단백질의 합성을 가능하게 함으로써 저온 및 고온 스트레스 반응에 관여하는 것으로 여겨진다[8]. 실제, *luc7* 돌연변이체는 저온 및 고온 스트레스에 대해 민감한 표현형을 보이는데, 이는 저온과 고온 스트레스 반응 유전자의 발현에 있어서 LUC7에 의한 스플라이싱 조절이 제대로 이루어지지 않기 때문인 것으로 여겨진다[8].

벼에도 온도 스트레스 반응에 관여하는 스플라이싱 인자가 알려져 있다. 벼에서 DEAD-box RNA 헬리카제(helicase)인 *OsRH42*는 저온 및 고온 스트레스 조건에서 발현이 증가하며, U2 snRNA와 결합한다[37]. *OsRH42* 발현이 감소한 형질전환체는 저온 스트레스에 민감한 반응을 보이며, pre-mRNA의 스플라이싱이 감소한다[37]. *OsRH42* 과발현체에서도 pre-mRNA의 스플라이싱이 제대로 이루어지지 않으며, *OsRH42* 과발현체는 저온 스트레스에 민감한 반응을 보인다[37]. 이러한 결과는 *OsRH42*의 항상성 조절에 의한 표적 유전자의 적절한 스플라이싱이 벼의 저온 스트레스 반응에서 중요함을 나타낸다.

### 고염, 건조 스트레스

최근에 식물에서 고염과 건조 스트레스 반응에 관여하는 스플라이싱 인자가 많이 보고되었다. 애기장대의 RZ-1a는 스플라이싱 인자인 hnRNP에 속하는 zinc finger-함유 glycine-rich RNA-binding protein (GRP)이며, 건조와 고염 스트레스 조건에서 스플라이싱 조절에 관여하는 것으로 여겨진다[28]. *RZ-1a* 과발현체는 건조 및 고염 스트레스에 민감한 반면, *rz-1a* 돌연변이체는 저항성을 보인다[28]. 애기장대의 GRP2는 건조와 저온 스트레스 반응에서 스플라이싱 조절에 관여하는 것으로 밝혀졌다[27]. 애기장대 GRP7은 건조와 고염, 그리고 저온 스트레스 조건에서 스플라이싱 조절에 관여하는 것으로 밝혀졌는데, 흥미롭게도, GRP7 과발현체는 건조와 고염 스트레스에 민감한 반면, 저온 스트레스에 저항성을 보인다[26]. 이러한 반응은 GRP7이 건조와 고염 스트레스 조건에서는 기공 열림을 일으키는 반면 저온 조건에서는 기공 닫힘을 유도하기 때문이다[26]. GRP7은 표적 mRNA에 직접 결합하여 5' 스플라이싱 위치 선택을 조절하는 것으로 알려져 있으며, 더불어 저온 스트레스 조건에서는 mRNA 수송에도 관여하는 것으로 여겨진다[26].

일부 SR 및 SR-유사 단백질도 고염과 건조 스트레스 조건에서 작용하는 스플라이싱 인자로 알려져 있다. 애기장대의 SR 단백질인 SR45는 고염 스트레스에 의해 발현이 증가하는데, *sr45* 돌연변이체에서 고염 스트레스 반응 유전자의 스플라이싱이 변화되었으며, *sr45* 돌연변이체는 고염 스트레스에 대해 야생형보다 민감한 표현형을 보여 SR45에 의한 적절한 스플라이싱이 고염 스트레스 반응에서 중요함을 알 수 있다[1]. 아울러, *sr45* 돌연변이체는 건조 스트레스에 대해서도 야생형보다 민감한 표현형을 보였는데, 이는 SR45가 고염 스트레스뿐만 아니라 건조 스트레스 조건에서도 스플라이싱 조절에 관여함을 시사한다[1].

순무(*Brassica rapa*)의 애기장대 SR45 상동체인 BrSR45a는 건조 스트레스 조건에서 splicing 조절에 관여하는 것으로 여겨진다[43]. BrSR45a는 건조 스트레스에 의해 발현이 증가하며, BrSR45a를 과발현시킨 애기장대 형질전환체는 건조 스트레스에 대해 야생형보다 더 높은 저항성을 보였고, 스트레스가 없는 조건에서도 건조 스트레스 반응 유전자인 DCP5, RD29A, GOLS1, AKR, U2AF, SDR 등의 스플라이싱이 변화된 패턴을 보였다[43].

RNA의 5' Cap에 결합하는 CBPs의 일부가 고염과 건조 스트레스 조건에서 선택적 스플라이싱을 조절하는 것으로 알려졌다. CBPs는 핵에서 이량체인 cap-binding complex (CBC)를 구성하여 RNA 중합효소 II에 의해 생성된 전사체에 결합한 후 첫 번째 인트론, 특히 5' 스플라이싱 위치의 선택적 스플라이싱에 영향을 주는 것으로 보고되었다[22, 50]. 애기장대의 CBP20과 CBP80의 돌연변이체는 각각 고염 스트레스에 민감한 반응을 보였으며, *cbp20*은 건조 스트레스에도 민감한 반응을 보였는데, 이 두 유전자는 기공의 개폐를 조절하여 고염과 건조 스트레스에 반응한다[20, 30, 48].

애기장대의 U1 스플라이소솜 단백질인 AtU1A는 고염 스트레스 조건에서 발현이 증가하며 pre-mRNA의 선택적 스플라이싱을 조절하는 것으로 알려졌다[15]. AtU1A는 많은 유전자의 5' 스플라이싱 위치 인식을 조절하여 선택적 스플라이싱에 관여하는데 *atu1a* 돌연변이체는 적절한 선택적 스플라이싱이 이루어지지 않아 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 축적이 증가하고, 고염 스트레스에 민감한 반응을 보였다[15].

카사바(*Manihot esculenta*)에 존재하는 SR 단백질도 선택적 스플라이싱을 보이는데 18개의 SR 단백질 중 15개 SR 단백질이 선택적 스플라이싱을 보인다[14]. 그 중 MeSR34를 애기장대에 형질전환하여 과발현시켰을 때 삼투 스트레스 반응 유전자의 발현이 증가되고, 활성산소종의 항상성이 유지되어 고염 스트레스에 강한 저항성을 보였다[14].

일부 스플라이싱 인자는 선택적 스플라이싱 뿐만 아니라 전사조절에도 관여하는 것으로 보고되었다. Pre-mRNA-processing protein 40 (PRP40)은 스플라이소솜 복합체의 초기 형

성에 필수적인 요소로 선택적 스플라이싱에 관여하며, 단백질 상호작용에 중요한 역할을 하는 N-말단의 두 개의 WW 도메인과 C-말단의 네 개의 FF 도메인을 가진다[17]. 식물의 PRP40 패밀리는 RNA 중합효소 II의 C-말단과 상호작용하여, 선택적 스플라이싱 뿐만 아니라 전사조절에도 관여하는 것으로 알려졌다[5, 24, 40]. 애기장대의 AtPRP40C는 고염 스트레스 반응 유전자의 전사와 스플라이싱 모두를 조절하는 것으로 보고되었으며, *atprp40c* 돌연변이체는 고염 스트레스에 대해 야생형보다 민감한 표현형을 보였다[17]. 흥미롭게도, AtPRP40C에 의해 전사가 조절되는 유전자와 스플라이싱이 조절되는 유전자는 대부분 서로 다른 것으로 밝혀졌다[17].

**환경 스트레스 조건에서 선택적 스플라이싱 이소형의 기능**

앞서 살펴본 바와 같이 환경 스트레스 조건에서 식물은 일부 스트레스 반응 유전자에 대해 특정 스플라이싱 인자에 의해 특정 스플라이싱 이소형을 생성하여 적절한 스트레스 반응을 보인다. 이번에는 선택적 스플라이싱을 보이는 환경 스트레스 반응 유전자의 스플라이싱 이소형의 종류와 환경 스트레스 조건에서의 이들 이소형의 기능에 대해 살펴보고자 한다 (Table 2).

**온도 스트레스**

식물의 고온 스트레스 반응에서 선택적 스플라이싱을 통해 HSF의 특정 스플라이싱 이소형이 생성되어 고온 스트레스 반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 애기장대의 *HsfA2*는 고온 스트레스 조건에서 DREB2 전사인자에 의해 전사가 활성화 되는데 고온에 의해 유도되는 선택적 스플라이싱에 의해 절단된 이소형이 생성된다[35]. 이 절단된 이소형은 자신의 프로모터에 결합하여 양성 자가조절 구조(positive au-

toregulation loop)를 형성하며, 이에 의해 더 많은 HSF2를 생성할 수 있게 된다[35].

고온 스트레스는 식물 세포에서 소포체(endoplasmic reticulum, ER) 스트레스를 유도하는데 이로 인해 단백질 펌핑 반응(unfolded protein response, UPR)이 유발된다[53, 62]. 풀어진(unfolded) 단백질이 소포체 내에 축적되면 소포체는 핵으로 신호를 보내 샤프론(chaperone), 접힘(folding) 효소, 소포체-연관 단백질 분해효소 외에 스트레스 반응 단백질 유전자의 발현을 유도한다[56, 62]. 이 과정에서 소포체 스트레스는 애기장대 전사인자인 *bZIP60*의 선택적 스플라이싱을 촉진하는데 정상적인 조건에서는 소포체막에 결합하여 있던 *bZIP60*이 선택적 스플라이싱에 의해 인트론이 제거된 이소형을 생성하면, 이 이소형은 핵으로 이동하여 단백질 접힘과 분해에 관여하는 유전자의 발현을 활성화시키게 된다[10, 21, 44].

벼의 calcium-dependent protein kinase (CPK)인 OsCPK17은 중앙에 인산화 도메인과 C-말단에 CAD 도메인을 가지는 구조로 이루어져 있으며 칼슘 이온에 의해 인산화 도메인의 트레오닌과 세린 잔기가 자가인산화 되면 구조적 변화가 일어나 활성화되는 인산화효소이다[3]. OsCPK17은 OsCPK17.1, OsCPK17.2, OsCPK17.3, OsCPK17.4, OsCPK17.5의 5개 스플라이싱 이소형을 가지는데 OsCPK17.1과 OsCPK17.2는 전체 ORF를 가지는 단백질을 암호화 하고, OsCPK17.3은 C-말단의 CAD 도메인만을 가지며, OsCPK17.4와 OsCPK17.5는 조기종결코돈에 의해 N-말단과 인산화 도메인만을 가지는 구조로 생성된다[3]. 다섯 이소형 중 OsCPK17.1과 OsCPK17.2만이 인산화효소 기능을 가지는 것으로 알려졌으며, 발현에서도 두 이소형이 전체 OsCPK17 발현의 많은 부분을 차지한다[3]. OsCPK17은 저온 스트레스 조건에서 아쿠아포린(aquaporin) 단백질인 OsPIP2;1과 OsPIP2;6, 수크로오스 생합성에 관여하

Table 2. Splice isoforms of abiotic stress-responsive genes by alternative splicing in plants

Gene	Plant species	Splice isoforms	Stress	Functional isoform(s) under stress	Reference
<i>HsfA2</i>	Arabidopsis	<i>HsfA2</i> , <i>HsfA2-II</i> , <i>HsfA2-III</i>	Heat	<i>HsfA2-III</i>	[35]
<i>bZIP60</i>	Arabidopsis	<i>bZIP60-U</i> , <i>bZIP60-S</i>	Heat	<i>bZIP60-S</i>	[10, 21, 44]
OsCPK17	Rice	<i>OsCPK17.1</i> , <i>OsCPK17.2</i> , <i>OsCPK17.3</i> , <i>OsCPK17.4</i> , <i>OsCPK17.5</i>	Cold	<i>OsCPK17.1</i> , <i>OsCPK17.2</i>	[3]
<i>MtJMJC5</i>	<i>Medicago truncatula</i>	<i>MtJMJC5a</i> , <i>MtJMJC5β</i> , <i>MtJMJC5γ</i> , <i>MtJMJC5δ</i>	Cold	<i>MtJMJC5a</i>	[56]
<i>CdDHN4</i>	Bermudagrass	<i>CdDHN4-L</i> , <i>CdDHN4-S</i>	Cold, heat, salt	<i>CdDHN4-L</i>	[39]
<i>SR45</i>	Arabidopsis	<i>SR45.1</i> , <i>SR45.2</i>	Salt	<i>SR45.1</i>	[1]
<i>ZIFL1</i>	Arabidopsis	<i>ZIFL1.1</i> , <i>ZIFL1.2</i> , <i>ZIFL1.3</i>	Drought	<i>ZIFL1.3</i>	[52]
<i>ZmCCA1</i>	Maize	<i>ZmCCA1.1</i> , <i>ZmCCA1.2</i> , <i>ZmCCA1.3</i>	Drought	<i>ZmCCA1.1</i>	[61]
<i>ScMYBAS1</i>	Sugarcane	<i>ScMYBAS1-2</i> , <i>ScMYBAS1-3</i> , <i>ScMYBAS1-4</i> , <i>ScMYBAS1-5</i>	Drought	<i>ScMYBAS1-3</i>	[12]
<i>LcDREB2</i>	<i>Leymus chinensis</i>	<i>LcDREB2a</i> , <i>LcDREB2b</i> , <i>LcDREB2c</i>	Salt, drought	<i>LcDREB2a</i>	[49]
<i>HRE1</i>	Arabidopsis	<i>HRE1α</i> , <i>HRE1β</i>	Hypoxia	<i>HRE1β</i>	[34, 55]

는 sucrose-phosphate synthase (SPS)인 OsSPS4를 인산화시킨다[2]. 저온 스트레스 조건에서 인산화에 의해 활성화된 OsPIP2;1과 OsPIP2;6은 물의 투과성을 증가시키며 OsSPS4는 세포 내에 수크로오스를 축적시키고 대사를 감소시켜 저온 스트레스에 대한 저항성을 가질 수 있도록 한다[2]. OsCPK17의 과발현체와 돌연변이체 모두 야생형보다 저온 스트레스에 민감한 표현형을 보였는데 이것은 OsCPK17에 의한 정밀한 표적 단백질의 인산화 조절이 필요함을 시사한다[2]. 선택적 스플라이싱에 의해 생성되는 OsCPK17.3, OsCPK17.4, OsCPK17.5는 mRNA level 조절 또는 활성화 조절에 관련되거나 OsCPK17.3의 경우 CAD 도메인을 통한 칼모듈린(calmodulin) 유사 상호작용을 하여 다른 인산화효소의 활성을 조절할 수도 있을 것으로 생각된다[3].

우산잔디(*Cynodon dactylon*)의 dehydrin인 CdDHN4는 두 개의 선택적 스플라이싱 이소형인 CdDHN4-L과 CdDHN4-S를 가지는데 CdDHN4-L의 애기장대 과발현체는 CdDHN4-S의 애기장대 과발현체보다 저온, 고온, 고염 스트레스에 대해 더 높은 저항성을 보였다[39]. 이러한 저항성 차이는 환경 스트레스 조건에서 CdDHN4-L이 CdDHN4-S에 비해 풀어진(unfolded) 구조가 더 유연하여, 더 안정적인 특성을 가지기 때문인 것으로 여겨진다[39].

콩과 식물인 메디카고(*Medicago truncatula*)의 MtJMJC5는 Jumonji C 도메인을 가지는 탈메틸화효소이며 히스톤 단백질의 라이신이나 아르지닌 잔기의 메틸 그룹 제거에 관여하는 것으로 알려져 있다[38]. MtJMJC5는 네 종류의 스플라이싱 이소형, 즉, MtJMJC5 $\alpha$ , MtJMJC5 $\beta$ , MtJMJC5 $\gamma$ , MtJMJC5 $\delta$ 를 가진다. MtJMJC5 $\alpha$ 는 전체 ORF를 가지는 정상 기능의 단백질을 암호화 하고, 정상 조건에서는 발현되지만 저온 조건에서는 발현이 감소된다[56]. MtJMJC5 $\beta$ , MtJMJC5 $\gamma$ , MtJMJC5 $\delta$ 는 저온 스트레스 조건에서 선택적 스플라이싱에 의해 발현되며, 모두 3' 말단에 조기종결코돈을 가지고, 넌센스-매개 분해가 일어난다[56]. 저온 스트레스 조건에서는 MtJMJC5의 선택적 스플라이싱에 의해 히스톤 단백질의 메틸화 정도에 변화가 생겨 정상 조건과의 후성유전학적 차이를 유발하는 것으로 여겨진다[56].

### 고염, 건조 스트레스

고염과 건조 스트레스에 의해서도 다양한 스트레스 반응 유전자의 선택적 스플라이싱이 일어나, 고염과 건조 스트레스 반응에 관여하는 이소형이 생성된다. 애기장대에서 pre-mRNA의 스플라이싱에 중요한 역할을 하는 SR45도 선택적 스플라이싱에 의해 이소형이 생성된다[1]. SR45.1과 SR45.2 두 이소형이 생성되며, SR45.1에 의해 암호화 되는 단백질이 SR45.2에 의해 암호화되는 단백질보다 8개 아미노산이 더 길다[1]. sr45 돌연변이체는 고염 스트레스에 대해 야생형보다 민감한 표현형을 보였는데, SR45.1과 SR45.2를 각각 돌연변이체에 과발현

시켰을 때, SR45.1을 과발현시킨 경우에만 야생형과 같은 표현형이 회복되었고, 동시에 스트레스 반응 유전자의 발현뿐만 아니라 스플라이싱 패턴도 회복되었다[1]. 이를 통해 SR45에 의한 고염 스트레스 저항성에는 SR45.1이 더 중요함을 알 수 있다.

삼투 스트레스를 유발하는 건조 스트레스도 다양한 스트레스 반응 유전자의 선택적 스플라이싱 이소형을 생성한다. 애기장대의 zinc-induced facilitator-like 1 (ZIFL1) 수송체는 선택적 3'SS 방식에 의해 두 개의 선택적 스플라이싱 이소형을 생성한다[52]. 전체 ORF 길이의 이소형은 뿌리세포의 액포막(tonoplast)에 위치하여 옥신의 이동을 조절하는 반면, 일부가 잘린 이소형은 잎의 공변세포의 세포막에 위치하여 건조 스트레스 반응을 조절하는 것으로 알려져 있다[52].

옥수수의 건조 스트레스 반응 유전자인 ZmCCA1은 ZmCCA1.1, ZmCCA1.2, ZmCCA1.3의 세 선택적 스플라이싱 이소형을 생성한다[61]. 세 이소형은 모두 MYB 도메인을 가지고 있다[61]. 세 이소형을 각각 애기장대에 형질전환하여 과발현시킨 뒤 건조 스트레스 저항성을 조사한 결과, ZmCCA1.1 과발현체가 가장 높은 건조 스트레스 저항성을 보였고, ZmCCA1.3 과발현체는 약간의 저항성을 보였으며, ZmCCA1.2 과발현체는 가장 낮은 저항성을 보였다[61]. 이러한 결과는 ZmCCA1.1이 건조 스트레스 저항성 반응에서 가장 중요한 역할을 함을 시사한다.

사탕수수(*Saccharum spp.*)의 건조 스트레스 반응 유전자인 ScMYBAS1은 모두 네 종류의 선택적 스플라이싱 이소형, 즉 ScMYBAS1-2, ScMYBAS1-3, ScMYBAS1-4, ScMYBAS1-5를 생성한다[12]. 이 중 ScMYBAS1-2와 ScMYBAS1-3을 각각 벼에 형질전환하여 과발현시켰을 때, ScMYBAS1-2 과발현체는 건조 스트레스에 더 민감한 표현형을 보인 반면 ScMYBAS1-3 과발현체는 건조 스트레스에 더 높은 저항성을 보였다[12]. 이러한 결과는 ScMYBAS1의 이소형 중 ScMYBAS1-3이 건조 스트레스 저항성 반응에 관여함을 나타낸다.

개밀아재비(*Leymus chinensis*)의 삼투 스트레스 반응 유전자인 LcDREB2B는 정상적인 조건에서는 기능을 가지지 않는 스플라이싱 이소형을 생성하지만, 고염 및 건조 스트레스 조건에서는 기능을 가지는 전체 ORF 길이의 스플라이싱 이소형을 생성하여 고염과 건조 스트레스 저항성을 가질 수 있도록 한다[49].

### 저산소 스트레스

저산소 스트레스 반응에서의 선택적 스플라이싱은 온도, 고염, 건조 스트레스에 비해 상대적으로 알려진 바가 적다. 애기장대의 저산소 스트레스 반응 유전자인 HRE1은 HRE1 $\alpha$ 와 HRE1 $\beta$ 의 두 선택적 스플라이싱 이소형을 생성하는 것으로 알려져 있다[55]. 두 이소형을 각각 과발현시킨 형질전환체는 모두 저산소 스트레스에 야생형보다 높은 저항성을 보였다

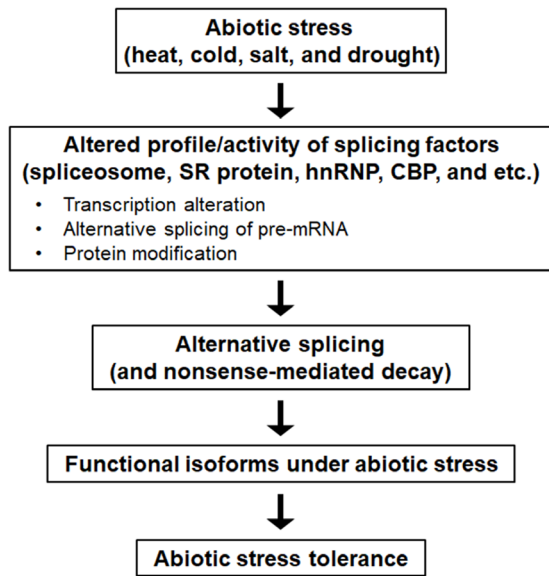


Fig. 1. Alternative splicing regulation mechanism under abiotic stress. Abiotic stress activates signaling pathways, which can modulate profile and/or activity of splicing factors by transcriptional regulation, alternative splicing, and/or protein modification. Expression of target genes is modulated by alternative splicing responding to the dynamic changes in splicing factor profile. Plants ultimately respond to abiotic stress by changes in the proteome feedback to alternative splicing.

[34, 55]. 두 이소형 모두 저산소 스트레스에 의해 증가하지만 *HRE1β*의 발현이 *HRE1α*에 비해 훨씬 더 높게 증가하여 *HRE1β*가 저산소 스트레스 반응에서 핵심적인 역할을 하는 것으로 보인다[34, 55].

### 결론

식물은 환경 스트레스 조건에서 스트레스 반응 유전자의 발현을 변화시켜 적절한 반응을 하여 생존한다. 이런 발현 변화는 전사 과정에서의 조절도 중요하지만 전사 후 과정에서의 조절도 중요한데, 많은 환경 스트레스 반응 유전자의 경우 pre-RNA의 선택적 스플라이싱에 의해 특정 스플라이싱 이소형을 생성하여 환경 스트레스에 반응하게 된다. 환경 스트레스 조건에서 snRNP를 비롯한 스플라이소솜을 구성하는 단백질, SR 단백질 및 hnRNP와 같은 스플라이싱 인자의 발현이 증가하거나 활성이 증가하여 선택적 스플라이싱이 일어난다 [1, 8, 28]. 또한 1차 전사체의 5' Cap에 결합하는 CBPs의 일부가 선택적 스플라이싱을 일으키는 스플라이싱 인자로 작용하기도 한다[30]. 환경 스트레스 조건에서 생성된 특정 스플라이싱 이소형은 다양한 방식으로 스트레스 반응에 관여하는데, 특정 스플라이싱 이소형을 생성하는 스플라이싱 인자로 작용하거나, 하위 스트레스 반응 유전자의 발현을 조절하거나, 특

정 세포 내 위치에 존재하여 작용하거나, 세포 내 안정성이 증가하여 그 기능을 수행하는 것으로 보고되어 있다(Fig. 1) [1, 21, 35, 56].

환경 스트레스 조건에서 특정 스플라이싱 인자에 의한 선택적 스플라이싱의 조절 이외에도 전사 과정이 선택적 스플라이싱에 영향을 주는 경우도 보고되었다. 염색질 리모델링 인자 (Chromatin remodeling factor)인 옥수수의 SWI/SNF 복합체 ZmCHB101이 전사 과정과 선택적 스플라이싱 모두에 관여하여 건조 및 삼투 스트레스 반응에 관여하는 것으로 확인되었다[70]. 흥미롭게도, ZmCHB101에 의한 선택적 스플라이싱의 표적 유전자는 발현을 조절하는 표적 유전자와 서로 달라 ZmCHB101의 전사 및 전사 후 조절 기능이 서로 분리되어 있는 것으로 여겨진다[70]. 전사와 선택적 스플라이싱 조절의 관계는 스플라이싱 인자와 RNA 중합효소 II와의 상호작용 또는 RNA 중합효소 II에 의한 전사 신장 속도 변화로 스플라이싱 위치의 사용 기회가 변하기 때문인 것으로 설명된다[6, 9]. 아울러 PRP40과 같은 스플라이싱 인자는 선택적 스플라이싱 뿐만 아니라 전사 조절에도 관여하는 것으로 보고되었다[17].

이러한 연구에도 불구하고 환경 스트레스 조건에서 일어나는 선택적 스플라이싱에 대한 연구는 일부 스트레스와 한정된 유전자에 국한 되어 있고, 정확한 분자 기전도 거의 밝혀지지 않아 앞으로 더 많은 집중적인 연구가 필요로 된다.

### 감사의 글

이 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

1. Albaqami, M., Laluk, K. and Reddy, A. S. N. 2019. The Arabidopsis splicing regulator SR45 confers salt tolerance in a splice isoform dependent manner. *Plant Mol. Biol.* **100**, 379-390.
2. Almadanim, M. C., Alexandre, B. M., Rosa, M. T. G., Sapeta, H., Leitão, A. E., Ramalho, J. C., Lam, T. T., Negrão, S., Abreu, I. A. and Oliveira, M. M. 2017. Rice calcium-dependent protein kinase OsCPK17 targets plasma membrane intrinsic protein and sucrose-phosphate synthase and is required for a proper cold stress response. *Plant Cell Environ.* **40**, 1197-1213.
3. Almadanim, M. C., Gonçalves, N. M., Rosa, M. T. G., Alexandre, B. M., Cordeiro, A. M., Rodrigues, M., Saibo, N. J. M., Soares, C. M., Romão, C. V., Oliveira, M. M. and

- Abreu, I. A. 2018. The rice cold-responsive calcium-dependent protein kinase OsCPK17 is regulated by alternative splicing and post-translational modifications. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* **1865**, 231-246.
4. Barbosa-Morais, N. L., Irimia, M., Pan, Q., Xiong, H. Y., Gueroussov, S., Lee, L. J., Slobodeniuc, V., Kutter, C., Watt, S., Colak, R., Kim, T., Misquitta-Ali, C. M., Wilson, M. D., Kim, P. M., Odom, D. T., Frey, B. J. and Blencowe, B. J. 2012. The evolutionary landscape of alternative splicing in vertebrate species. *Science* **338**, 1587-1593.
  5. Bedford, M. T. and Leder, P. 1999. The FF domain: a novel motif that often accompanies WW domains. *Trends Biochem. Sci.* **24**, 264-265.
  6. Brown, S. J., Stoilov, P. and Xing, Y. 2012. Chromatin and epigenetic regulation of pre-mRNA processing. *Hum. Mol. Genet.* **21**, R90-R96.
  7. Chen, W. and Moore, M. J. 2015. Spliceosomes. *Curr. Biol.* **25**, R181-R183.
  8. de Francisco Amorim, M., Willing, E. M., Szabo, E. X., Francisco-Mangilet, A. G., Droste-Borel, I., Maček, B., Schneeberger, K. and Laubinger, S. 2018. The U1 snRNP subunit LUC7 modulates plant development and stress responses via regulation of alternative splicing. *Plant Cell* **30**, 2838-2854.
  9. de la Mata, M., Alonso, C. R., Kadener, S., Fededa, J. P., Blaustein, M., Pelisch, F., Cramer, P., Bentley, D. and Kornblihtt, A. R. 2003. A slow RNA polymerase II affects alternative splicing *in vivo*. *Mol. Cell* **12**, 525-532.
  10. Deng, Y., Humbert, S., Liu, J. X., Srivastava, R., Rothstein, S. J. and Howell, S. H. 2011. Heat induces the splicing by IRE1 of a RNA encoding a transcription factor involved in the unfolded protein response in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 7247-7252.
  11. Duque, P. 2011. A role for SR proteins in plant stress responses. *Plant Signal. Behav.* **6**, 49-54.
  12. Fávero Peixoto-Junior, R., Mara de Andrade, L., Dos Santos Brito, M., Macedo Nobile, P., Palma Boer Martins, A., Domingues Carlin, S., Vasconcelos Ribeiro, R., de Souza Goldman, M. H., Nebó Carlos de Oliveira, J. F., Vargas de Oliveira Figueira, A. and Creste, S. 2018. Overexpression of *ScMYBAS1* alternative splicing transcripts differentially impacts biomass accumulation and drought tolerance in rice transgenic plants. *PLoS ONE* **13**, e0207534.
  13. Feng, J., Li, J., Gao, Z., Lu, Y., Yu, J., Zheng, Q., Yan, S., Zhang, W., He, H., Ma, L. and Zhu, Z. 2015. SKIP confers osmotic tolerance during salt stress by controlling alternative gene splicing in *Arabidopsis*. *Mol. Plant* **8**, 1038 - 1052.
  14. Gu, J., Ma, S., Zhang, Y., Wang, D., Cao, S. and Wang, Z. Y. 2020. Genome-wide identification of cassava serine/arginine-rich proteins: insights into alternative splicing of pre-mRNAs and response to abiotic stress. *Plant Cell Physiol.* **61**, 178-191.
  15. Gu, J., Xia, Z., Luo, Y., Jiang, X., Qian, B., Xie, H., Zhu, J. K., Xiong, L., Zhu, J. and Wang, Z. Y. 2018. Spliceosomal protein U1A is involved in alternative splicing and salt stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res.* **46**, 1777-1792.
  16. Han, S. P., Tang, Y. H. and Smith, R. 2010. Functional diversity of the hnRNPs: past, present and perspectives. *Biochem. J.* **430**, 379-392.
  17. Hernando, C. E., García Hourquet, M., de Leone, M. J., Careno, D., Iserte, J., Mora Garcia, S. and Yanovsky, M. J. 2019. A role for Pre-mRNA-PROCESSING PROTEIN 40C in the control of growth, development, and stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* **10**, 1019.
  18. Howard, J. M. and Sanford, J. R. 2015. The RNAissance family: SR proteins as multifaceted regulators of gene expression. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* **6**, 93-110.
  19. Huertas, R., Catalá, R., Jiménez-Gómez, J. M., Mar Castellano, M., Crevillén, P., Piñeiro, M., Jarillo, J. A. and Salinas, J. 2019. *Arabidopsis* SME1 regulates plant development and response to abiotic stress by determining spliceosome activity specificity. *Plant Cell* **31**, 537-554.
  20. Hugouvieux, V., Kwak, J. M. and Schroeder, J. I. 2001. An mRNA cap binding protein, ABH1, modulates early abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Cell* **106**, 477-487.
  21. Iwata, Y., Fedoroff, N. V. and Koizumi, N. 2008. *Arabidopsis* bZIP60 is a proteolysis-activated transcription factor involved in the endoplasmic reticulum stress response. *Plant Cell* **20**, 3107-3121.
  22. Izaurrealde, E., Lewis, J., McGuigan, C., Jankowska, M., Darzynkiewicz, E. and Mattaj, I. W. 1994. A nuclear cap binding protein complex involved in pre-mRNA splicing. *Cell* **78**, 657-668.
  23. Jiang, J., Liu, X., Liu, C., Liu, G., Li, S. and Wang, L. 2017. Integrating omics and alternative splicing reveals insights into grape response to high temperature. *Plant Physiol.* **173**, 1502-1518.
  24. Kao, H. Y. and Siliciano, P. G. 1996. Identification of Prp40, a novel essential yeast splicing factor associated with the U1 small nuclear ribonucleoprotein particle. *Mol. Cell. Biol.* **16**, 960-967.
  25. Kim, G. D., Yoo, S. D. and Cho, Y. H. 2018. STABILIZED1 as a heat stress-specific splicing factor in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal. Behav.* **13**, e1432955.
  26. Kim, J. S., Jung, H. J., Lee, H. J., Kim, K. A., Goh, C. H., Woo, Y., Oh, S. H., Han, Y. S. and Kang, H. 2008. Glycine-rich RNA-binding protein7 affects abiotic stress responses by regulating stomata opening and closing in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* **55**, 455-466.
  27. Kim, J. Y., Park, S. J., Jang, B., Jung, C. H., Ahn, S. J., Goh, C. H., Cho, K., Han, O. and Kang, H. 2007. Functional characterization of a glycine-rich RNA-binding protein 2 in *Arabidopsis thaliana* under abiotic stress conditions. *Plant J.* **50**, 439-451.
  28. Kim, Y. O., Pan, S., Jung, C. H. and Kang, H. 2007. A zinc finger-containing glycine-rich RNA-binding protein, atRZ-1a, has a negative impact on seed germination and seedling growth of *Arabidopsis thaliana* under salt or drought stress conditions. *Plant Cell Physiol.* **48**, 1170-1181.
  29. Koncz, C., deJong, F., Villacorta, N., Szakonyi, D. and Koncz,



- Z. 2012. The spliceosome-activating complex: molecular mechanisms underlying the function of a pleiotropic regulator. *Front. Plant Sci.* **3**, 9.
30. Kong, X., Ma, L., Yang, L., Chen, Q., Xiang, N., Yang, Y. and Hu, X. 2014. Quantitative proteomics analysis reveals that the nuclear cap-binding complex proteins Arabidopsis CBP20 and CBP80 modulate the salt stress response. *J. Proteome Res.* **13**, 2495-2510.
31. Laloum, T., Martín, G. and Duque, P. 2018. Alternative splicing control of abiotic stress responses. *Trends Plant Sci.* **23**, 140-150.
32. Lee, B. H., Kapoor, A., Zhu, J. and Zhu, J. K. 2006. STABILIZED1, a stress-upregulated nuclear protein, is required for pre-mRNA splicing, mRNA turnover, and stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* **18**, 1736-1749.
33. Li, Q., Xiao, G. and Zhu, Y. X. 2014. Single-nucleotide resolution mapping of the *Gossypium raimondii* transcriptome reveals a new mechanism for alternative splicing of introns. *Mol. Plant* **7**, 829-840.
34. Licausi, F., van Dongen, J. T., Giuntoli, B., Novi, G., Santaniello, A., Geigenberger, P. and Perata, P. 2010. HRE1 and HRE2, two hypoxia-inducible ethylene response factors, affect anaerobic responses in Arabidopsis thaliana. *Plant J.* **62**, 302-315.
35. Liu, J., Sun, N., Liu, M., Liu, J., Du, B., Wang, X. and Qi, X. 2013. An autoregulatory loop controlling Arabidopsis HsfA2 expression: role of heat shock-induced alternative splicing. *Plant Physiol.* **162**, 512-521.
36. Long, J. C. and Caceres, J. F. 2009. The SR protein family of splicing factors: master regulators of gene expression. *Biochem. J.* **417**, 15-27.
37. Lu, C. A., Huang, C. K., Huang, W. S., Huang, T. S., Liu, H. Y. and Chen, Y. F. 2020. DEAD-box RNA helicase 42 plays a critical role in pre-mRNA splicing under cold stress. *Plant Physiol.* **182**, 255-271.
38. Lu, F., Li, G., Cui, X., Liu, C., Wang, X. and Cao, X. 2008. Comparative analysis of JmjC domain-containing proteins reveals the potential histone demethylases in Arabidopsis and rice. *J. Integr. Plant Biol.* **50**, 886-896.
39. Lv, A., Su, L., Liu, X., Xing, Q., Huang, B., An, Y. and Zhou, P. 2018. Characterization of Dehydrin protein, CdDHN4-L and CdDHN4-S, and their differential protective roles against abiotic stress *in vitro*. *BMC Plant Biol.* **18**, 299.
40. Macias, M. J., Wiesner, S. and Sudol, M. 2002. WW and SH3 domains, two different scaffolds to recognize proline-rich ligands. *FEBS Lett.* **513**, 30-37.
41. Marquez, Y., Brown, J. W., Simpson, C., Barta, A. and Kalyna, M. 2012. Transcriptome survey reveals increased complexity of the alternative splicing landscape in Arabidopsis. *Genome Res.* **22**, 1184-1195.
42. Merkin, J., Russell, C., Chen, P. and Burge, C. B. 2012. Evolutionary dynamics of gene and isoform regulation in mammalian tissues. *Science* **338**, 1593-1599.
43. Muthusamy, M., Yoon, E. K., Kim, J. A., Jeong, M. J. and Lee, S. I. 2020. Brassica rapa SR45a regulates drought tolerance via the alternative splicing of target genes. *Genes (Basel)* **11**, E182.
44. Nagashima, Y., Mishiba, K., Suzuki, E., Shimada, Y., Iwata, Y. and Koizumi, N. 2011. Arabidopsis IRE1 catalyses unconventional splicing of bZIP60 mRNA to produce the active transcription factor. *Sci. Rep.* **1**, 29.
45. Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2012. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim. Biophys. Acta* **1819**, 97-103.
46. Ner-Gaon, H., Halachmi, R., Savaldi-Goldstein, S., Rubin, E., Ophir, R. and Fluhr, R. 2004. Intron retention is a major phenomenon in alternative splicing in Arabidopsis. *Plant J.* **39**, 877-885.
47. Nilsen, T. W. and Graveley, B. R. 2010. Expansion of the eukaryotic proteome by alternative splicing. *Nature* **463**, 457-463.
48. Papp, I., Mur, L. A., Dalmadi, A., Dulai, S. and Koncz, C. 2004. A mutation in the Cap Binding Protein 20 gene confers drought tolerance to Arabidopsis. *Plant Mol. Biol.* **55**, 679-686.
49. Peng, X., Zhang, L., Zhang, L., Liu, Z., Cheng, L., Yang, Y., Shen, S., Chen, S. and Liu, G. 2013. The transcriptional factor LcDREB2 cooperates with LcSAMDC2 to contribute to salt tolerance in Leymus chinensis. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* **113**, 245-256.
50. Raczynska, K. D., Simpson, C. G., Ciesiolka, A., Szewc, L., Lewandowska, D., McNicol, J., Szweykowska-Kulinska, Z., Brown, J. W. and Jarmolowski, A. 2010. Involvement of the nuclear cap-binding protein complex in alternative splicing in Arabidopsis thaliana. *Nucleic Acids Res.* **38**, 265-378.
51. Reddy, A. S. N., Marquez, Y., Kalyna, M. and Barta, A. 2013. Complexity of the alternative splicing landscape in plants. *Plant Cell* **25**, 3657-3683.
52. Remy, E., Cabrito, T. R., Baster, P., Batista, R. A., Teixeira, M. C., Friml, J., Sá-Correia, I. and Duque, P. 2013. A major facilitator superfamily transporter plays a dual role in polar auxin transport and drought stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* **25**, 901-926.
53. Ron, D. and Walter, P. 2007. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 519-529.
54. Schramm, F., Larkindale, J., Kiehlmann, E., Ganguli, A., English, G., Vierling, E. and von Koskull-Doring, P. 2008. A cascade of transcription factor DREB2A and heat stress transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of Arabidopsis. *Plant J.* **53**, 264-274.
55. Seok, H. Y., Tarte, V. N., Lee, S. Y., Park, H. Y. and Moon, Y. H. 2014. Arabidopsis HRE1a, a splicing variant of AtERF73/HRE1, functions as a nuclear transcription activator in hypoxia response and root development. *Plant Cell Rep.* **33**, 1255-1262.
56. Shen, Y., Wu, X., Liu, D., Song, S., Liu, D. and Wang, H. 2016. Cold-dependent alternative splicing of a Jumonji C domain-containing gene MtJMJ5 in Medicago truncatula. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **474**, 271-276.
57. Shen, Y., Zhou, Z., Wang, Z., Li, W., Fang, C., Wu, M., Ma,

- Y., Liu, T., Kong, L. A., Peng, D. L. and Tian, Z. 2014. Global dissection of alternative splicing in paleopolyploid soybean. *Plant Cell* **26**, 996-1008.
58. Staiger, D. and Brown, J. W. S. 2013. Alternative splicing at the intersection of biological timing, development, and stress responses. *Plant Cell* **25**, 3640-3656.
59. Tharun, S. 2009. Roles of eukaryotic Lsm proteins in the regulation of mRNA function. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* **272**, 149-189.
60. Thatcher, S. R., Zhou, W., Leonard, A., Wang, B. B., Beatty, M., Zastrow-Hayes, G., Zhao, X., Baumgarten, A. and Li, B. 2014. Genome-wide analysis of alternative splicing in *Zea mays*: landscape and genetic regulation. *Plant Cell* **26**, 3472-3487.
61. Tian, L., Zhao, X., Liu, H., Ku, L., Wang, S., Han, Z., Wu, L., Shi, Y., Song, X. and Chen, Y. 2019. Alternative splicing of *ZmCCA1* mediates drought response in tropical maize. *PLoS ONE* **14**, e0211623.
62. Vitale, A. and Boston, R. S. 2008. Endoplasmic reticulum quality control and the unfolded protein response: insights from plants. *Traffic* **9**, 1581-1588.
63. Wachter, A., Rühl, C. and Stauffer, E. 2012. The role of polypyrimidine tract-binding proteins and other hnRNP proteins in plant splicing regulation. *Front. Plant Sci.* **3**, 81.
64. Wahl, M. C., Will, C. L. and Lührmann, R. 2009. The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. *Cell* **136**, 701-718.
65. Will, C. L. and Lührmann, R. 2011. Spliceosome structure and function. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **3**, a003707.
66. Wilusz, C. J. and Wilusz, J. 2013. Lsm proteins and Hfq: life at the end. *RNA Biol.* **10**, 592-601.
67. Witten, J. T. and Ule, J. 2011. Understanding splicing regulation through RNA splicing maps. *Trends Genet.* **27**, 89-97.
68. Yeap, W. C., Namasivayam, P. and Ho, C. L. 2014. HnRNP-like proteins as post-transcriptional regulators. *Plant Sci.* **227**, 90-100.
69. Yoshida, T., Sakuma, Y., Todaka, D., Maruyama, K., Qin, F., Mizoi, J., Kidokoro, S., Fujita, Y., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2008. Functional analysis of an Arabidopsis heat-shock transcription factor HsfA3 in the transcriptional cascade downstream of the DREB2A stress-regulatory system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **368**, 515-521.
70. Yu, X., Meng, X., Liu, Y., Wang, X., Wang, T. J., Zhang, A., Li, N., Qi, X., Liu, B. and Xu, Z. Y. 2019. The chromatin remodeler ZmCHB101 impacts alternative splicing contexts in response to osmotic stress. *Plant Cell Rep.* **38**, 131-145.
71. Zhang, G., Guo, G., Hu, X., Zhang, Y., Li, Q., Li, R., Zhuang, R., Lu, Z., He, Z., Fang, X., Chen, L., Tian, W., Tao, Y., Kristiansen, K., Zhang, X., Li, S., Yang, H., Wang, J. and Wang, J. 2010. Deep RNA sequencing at single base-pair resolution reveals high complexity of the rice transcriptome. *Genome Res.* **20**, 646-654.

## 초록 : 식물에서 선택적 스플라이싱에 의한 스트레스 반응 조절

석혜연<sup>1</sup> · 이선영<sup>2</sup> · 문용환<sup>1,3,4\*</sup>

(<sup>1</sup>부산대학교 생명시스템연구소, <sup>2</sup>미국 로렌스 버클리 국립연구소, <sup>3</sup>부산대학교 생명시스템학과, <sup>4</sup>부산대학교 분자생물학과)

Pre-mRNA의 스플라이싱은 진핵생물 유전자의 적절한 발현에 매우 중요한 역할을 한다. 선택적 스플라이싱은 스플라이싱 위치가 서로 다르게 인식될 때 발생하며 동일한 pre-mRNA로부터 둘 이상의 전사체와 단백질을 생성할 수 있다. 스플라이싱 위치의 결정은 스플라이소솜과 SR 단백질, hnRNP, CBP 등의 스플라이싱 인자에 의해 조절된다. 고온, 저온, 고염, 건조, 저산소 등 다양한 환경 스트레스 조건에서 식물의 많은 스트레스 반응 유전자에 대해 선택적 스플라이싱이 일어나는 것이 알려져 있으며, 이러한 선택적 스플라이싱은 식물이 환경 변화에 적응하기 위한 중요한 기작 중 하나로 여겨진다. 저온, 고온, 고염, 건조 스트레스 조건에서는 스플라이싱 인자의 발현이 변하거나 또는 정상 조건에서와는 다른 스플라이싱 활성을 가짐으로써 선택적 스플라이싱이 일어난다. 환경 스트레스 반응 유전자의 스플라이싱 이소형은 각각 환경 스트레스에 대해 서로 다른 반응을 보이는데 생성되는 조직이 서로 다르기도 하고, 일부 이소형은 넌센스-매개 분해에 의해 분해되기도 한다. 스플라이싱 이소형의 단백질은 환경 스트레스 조건에서 정상 조건과 비교하여 세포 내 위치가 다르기도 하고, 전사인자 또는 효소로서 다른 활성을 가지기도 한다. 이러한 다양한 연구에도 불구하고 식물의 환경 스트레스 반응에서 선택적 스플라이싱에 대한 연구는 일부 스트레스와 유전자에 국한 되어 있고, 아직 분자 기전이 제대로 밝혀지지 않은 부분이 많았으므로 더 많은 연구가 필요하다.