식물 발달과 스트레스 반응에 관여하는 ERF 유전자군의 다양한 역할과 조절기작

박상규 · 김다혜 · 박성옥 · 이종렬 · 임선형*

농촌진흥청 국립농업과학원 생물소재공학과

Various Roles and Regulatory Mechanisms of the ERF Family Genes Involved in Plant Development and Stress Response

Sangkyu Park, Da-Hye Kim, Sung-Ok Park, Jong-Yeol Lee, and Sun-Hyung Lim*

National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, JeonJu, 54874, Korea

Abstract : APETALA2/ethylene response factor (AP2/ERF) transcription factors are involved in biological and abiotic stress response, plant development, and growth. *AP2/ERF* genes are classified into five families (AP2, DREB, ERF, RAV, and soloist), and most genes belong to DREB and ERF families. So far, genomic analysis of DREB and ERF family genes of various plant species has been performed, and classifications based on the homology of AP2/ERF-specific DNA binding domain, arrangement of exons and introns, and similarity of group-specific conserved motifs have been conducted. These classifications provide plausible information for the prediction of *AP2/ERF* gene function. In this paper, an overview of the classification, structure, evolution, and function of *AP2/ERF* genes is described, and the functional properties and regulatory mechanisms of ERF family genes that have been identified are summarized by group according to the functional classification of *Arabidopsis* ERF family genes. This shows that group-specific conserved motifs of *Arabidopsis* ERF family genes are closely linked with group-specific functions and regulatory mechanisms, indicating that the effective functional prediction of ERF family genes through such a classification scheme can be usefully applied to the trait improvements of various plants.

Keywords : AP2/ERF, Ethylene response factor, Stress response, Transcription factor

서 언

식물은 기온, 물, 빛 등의 자연환경의 변화 및 해충, 질병 등의 다양한 외부로부터의 공격에 항상 직면해 있다. 이러한 요인들은 식물의 성장, 분화, 생식 등 식물의 생리뿐만 아니라 작물의 생산량에 절대적인 영향을 미친다. 이러한 다양한 환경변화에 적응하여 생존, 성장하기 위해 식물은 전사인자 (transcription factor)들을 통한 복잡한 조절 시스템을 발달시켜왔다. 식물의 성장 및 스트레스 관련 유전자들을 조절하는 전사인자들의 기능 연구는 식물 분자 생물학 분야에서 매우 매력적인 연구 대상으로 여겨져 왔다. APETALA2/ethylene-responsive element-binding factor (AP2/ERF)는 식물의 성장 및 스트레스 반응에 대한 중요한 조절자

로서, 그 구조와 조절 양상, 기능들이 다양한 식물에서 연구되어 왔다. AP2/ERF 는 상동성이 보존된 60-70개의 아미노산으로 이루어진 DNA 결합도메인을 하나 또는 두 개를 지니는 단백질들로 구성되며 이 도메인은 화분 발달에 관여하는 애기장대의 homeotic 유전자 *AP2*에서 최초로 보고되었다(Jofuku et al. 1994). *AP2/ERF* 유전자들은 다섯 종류의 과 (family)인 APETALA2 (*AP2*), Dehydration-Responsive-Element-Binding protein (*DREB*), Ethylene Responsive element binding Factor (*ERF*), (Related to *ABI3/VP* (*RAV*), Soloist로 분류되며 대다수의 *AP2/ERF* 유전자들은 비생물적 (abiotic) 스트레스 반응에 관여하는 *DREB* 과와 생물적 (biotic) 스트레스 반응 및 식물 발달에 관여하는 *ERF* 과에 속한다 (Fig. 1). 지금까지 애기장대, 포플러, 콩, 벼, 포도, 오이 등 다양한 식물 종에서 *AP2/ERF* 유전체 분석이 수행되었다. 그 결과 다양한 식물 종에서 119-200개 범위의 *AP2/ERF* 유전자들이 확인되었으며 상동성 및 엑손, 인트론의

*Corresponding Author (E-mail: limsh2@korea.kr, Tel: +82-63-238-4615, Fax: +82-63-238-4604)

(Received on October 11, 2017. Accepted on November 8, 2017.)

Fig. 1. Structures of the AP2/ERF superfamily proteins. The AP2 family proteins contain double AP2/ERF DNA binding domain (AP2/ERF domain) or single AP2/ERF domain presenting a similarity to that of the other AP2 family proteins (dark grey box). DREB, ERF, RAV, and Soloist family proteins contain single AP2/ERF domain (grey box) but RAV proteins have an additional B3 DNA binding domain (yellow box). The amino acid sequences of the Soloist proteins are different from those of other AP2/ERF proteins (blue bar) except for the AP2/ERF domain.

배열, 기능적 유사부위의 유무를 바탕으로 계통적 분류가 수행되었다(Dossa et al. 2016, Gu et al. 2017). *AP2/ERF* 유전자들의 기능적 특성 검정은 대부분의 식물 중에서 많이 진행되고 있지 않으나 애기장대 *AP2/ERF* 유전자들을 바탕으로 한 기능 확인 연구는 다양한 식물 종의 *AP2/ERF* 유전자들의 기능을 예측하는 것이 가능하게 한다. 본 논문에서는 AP2/ERF에 대한 분류, 구조, 진화적 기원 및 기능에 대해 전반적으로 기술하였고, 특히 다양한 스트레스 및 신호전달, 식물발달에 관여하는 ERF 과 유전자들의 기능적 특성을 최근까지 동정된 애기장대 ERF 과 유전자들의 연구 결과들을 바탕으로 정리하였다. 이러한 결과는 다른 식물 종 유래의 ERF 과 유전자들의 기능 예측 및 작물 형질개선과 관련한 유용 유전자 선발에 있어서 중요한 자료가 될 수 있을 것이다.

AP2/ERF 단백질들의 분류

AP2/ERF 전사인자들은 DNA 결합 도메인의 개수 및 서열의 상동성에 따라 AP2, DREB, ERF, RAV, soloist의 다섯 가지 과로 분류된다 (Fig. 1). AP2 과는 병렬로 반복된 두 개의 DNA 결합 도메인을 지니며 DNA 결합 도메인 및 핵 적중 서열 (nuclear localization sequence)의 아미노산 차이에 따라 AP2와 AINTEGUMENTA (ANT) 그룹으로 다시 분류된다. AP2 그룹에는 하나의 DNA 결합 도메인만을 지니는 소수의 단백질들도

포함된다(Shigyo and Ito 2004). DREB와 ERF 과는 하나의 DNA 결합 도메인을 지니지만 DNA 결합 도메인의 아미노산 서열의 차이에 따라 서로 다른 과로 분류된다. RAV 과는 하나의 DNA 결합 도메인 외에 ABA 반응성 관여 전사인자인 ABI3/VP1의 B3 도메인과 유사한 B3 도메인을 추가적으로 지닌다(Swaminathan et al. 2008). 이들 외에 하나의 DNA 결합 도메인을 지니지만 DNA 결합 도메인 이외의 서열이 다른 AP2/ERF 단백질들과 크게 차이가 나는 경우 Soloist로 분류된다(Nakano et al. 2006, Zhuang et al. 2008).

대다수의 AP2/ERF 단백질들은 DREB와 ERF 과에 속하며, 애기장대는 총 145개의 AP2/ERF 단백질들 중 122개, 벼는 총 170개 중 139개의 단백질들이 DREB와 ERF로 분류된다(Nakano et al. 2006). Sakuma 등(2002)은 DNA 결합 도메인의 유사성을 바탕으로 애기장대의 DREB와 ERF 단백질들을 각각 A1-A6와 B1-B6로 세분화하였고, Nakano 등(2006)은 DREB와 ERF 단백질들의 인트론-엑손 구조와 DNA 결합 도메인 및 추가적 모티프들의 유사성을 바탕으로 I 부터 Xb-L까지 12개의 그룹으로 분류하였다. Nakano 등(2006)의 이러한 분류방식은 DREB와 ERF 전사인자들의 진화적 발달의 유추가 용이하며 비슷한 기능적 특성을 지니는 단백질들이 동일 그룹으로 분류된다는 장점이 있다. 현재 DREB와 ERF 과의 명명에 있어서 대부분 Sakuma 등(2002) 또는 Nakano 등(2006)의 명명법을

따르고 있으며 본 논문에서는 Nakano 등의 명명법을 바탕으로 기술하였다.

AP2/ERF 단백질들의 구조 및 DNA 결합 특성

AP2/ERF 단백질들의 DNA 결합 도메인은 60-70개의 아미노산으로 구성되며 3개의 역평행 β -sheets와 하나의 평행 α -helix로 구성되며 β -sheets내의 트립토판과 아르기닌이 DNA major groove에서 DNA와 결합하는 것으로 알려져 있다 (Sharma et al. 2010). DNA 결합 도메인의 아미노산 서열은 각 그룹별로 상당한 차이를 나타내며 이는 각각 다양한 외부 자극 및 조건에 대해 특이적으로 반응할 수 있음을 의미한다.

AP2 과의 단백질들은 2개의 DNA 결합 도메인을 지니지만 아직 이들의 특징적 DNA 결합부위가 명확하지 않다. 반면 DREB와 ERF 단백질들은 각각 특이적 염기서열을 통해 DNA와 결합한다. 대부분의 DREB 단백질들은 조절 대상 유전자 프로모터 상의 Dehydration-Responsive-Element (DRE)라고 명명된 A/GCCGAC 부위에 결합하며 ERF 단백질들은 GCC-box라 명명된 AGCCGCC 부위에 결합한다. 그러나 그룹별로 결합 부위의 염기서열에 따라 결합 선호도에서 미묘한 차이를 보이거나 하나의 단백질이 DRE와 GCC-box 모두에 결합하거나 또는 전혀 다른 염기서열을 인식하는 경우들이 보고되고 있다. 애기장대의 DREB 단백질인 DREB1A와 DREB2A는 모두 DRE에 결합하지만 DREB1A의 경우 A/GCCGACNT를, DREB2A의 경우 ACCGAC를 더욱 선호한다 (Maruyama et al. 2004, Sakuma et al. 2006). 애기장대 DREB인 TINY의 경우 DRE와 GCC-box에 모두 결합할 수 있으며 (Sun et al. 2008) 또 다른 애기장대의 DREB인 RAP2.4A의 경우 각각 CACGCGATTC와 같이 DRE와 전혀 다른 염기서열을 인식한다 (Shaikhali et al. 2008). 한편 ERF 단백질인 토마토의 JERF3와 담배의 WRAF1, 2는 각각 CACCG와 GAAAAGAAAATTTC에 결합하는 것으로 보고되었다 (Wu et al. 2008, Sasaki et al. 2007). RAV 단백질의 AP2/ERF DNA 결합 도메인은 CAACA와 결합하나 B3는 이와는 전혀 다른 CACCTG와 결합한다. 따라서 RAV 단백질들의 DNA 결합력과 결합 특이성은 다른 AP2/ERF 단백질들 보다 매우 강하다 (Kagaya et al. 1999).

AP2/ERF 유전자들의 진화

AP2/ERF 유전자들은 식물 특이적 전사인자로 생각되어 왔으나 흥미롭게도 섬모충 (*Tetrahymena thermophila*) (Wuitschick et al. 2004), 시아노박테리아 (*Trichodesmium erythraeum*) 및

파아지 (Enterobacteria phage Rb49, Bacteriophage Felix 01)에서도 AP2/ERF DNA 결합 도메인의 존재가 보고되었다 (Magnani et al. 2004). 이러한 비 식물 유래의 AP2/ERF 도메인 함유 단백질은 AP2/ERF 도메인과 인접한 HNH (His-Asn-His) endonuclease 도메인을 지니고 있으며 이들의 DNA 결합 능력이 보고되었다 (Magnani et al. 2004). 녹조류 (*Chlamydomonas reinhardtii*)에서도 AP2 또는 ERF 과에 속하는 AP2/ERF 도메인 함유 단백질들이 확인되었다. 이것은 AP2/ERF 유전자들이 식물의 초기 진화 단계에서 발생했음을 나타내며 이들이 시아노박테리아로부터 세포내 공생 (endosymbiosis)을 통해 조류로 전달된 후 고등 식물로의 수평적 유전자 이동 (lateral gene transfer)이 진행되었음을 시사한다 (Wessler 2005, Magnani et al. 2004).

AP2/ERF의 기능

AP2 과 유전자들은 애기장대에 14개 (Mizoi et al. 2012), 벼 23개가 존재하며 (Rashid et al. 2012) 식물의 종자 발달, 체세포 배의 발생, 측근형성, 꽃잎 세포 및 꽃잎 분열 조직 결정, 개화시기 결정 등에 있어 중요한 역할을 한다. 일반적으로 AP2 유전자들은 꽃, 잎, 줄기에서 높은 발현률을 나타내며 지금까지 AP2, ANT, ANT like (AIL), BABY BOOM (BBM), WRINKLED (WRI1), PLETHORA (PLT) 등의 유전자들이 보고되고 있다 (Jofuku et al. 1994, Elliott et al. 1996, Klucher et al. 1996, Mizukami and Fischer 2000, Krizek 2009).

DREB 과의 유전자들은 애기장대에 57개, 벼에는 56개가 존재하며 주로 저온, 가뭄, 고염분과 같은 비생물적 요인에 의해 유도되어 하위 스트레스 반응 유전자들의 발현을 조절한다. ERF 과의 유전자들은 애기장대에 65개, 벼에는 83개의 유전자가 존재하며 주로 병원균에 대한 방어기작 및 이와 관련한 호르몬인 에틸렌, 자스몬산, 살리실산, ABA 신호 전달과 같은 생물적 요인들에 반응하며 식물 발달과 성장의 조절에 관여한다 (Sakuma et al. 2002, Nakano et al. 2006).

RAV 과 유전자들은 애기장대에 6개, 벼에는 5개가 존재하며 모든 조직에서 발현되나 주로 뿌리에서 강한 발현을 보이고 꽃에서는 약한 발현을 보인다. 기능적으로는 식물의 성장, 발달에 음성 조절자 (negative regulator)로서 작용하며 또한 다양한 스트레스에 대한 방어기작에 관여한다 (Nakano et al. 2006, Rashid et al. 2012).

AP2/ERF에 관한 연구는 주로 DREB와 ERF 과 유전자들에 대해 초점을 맞추어 왔으며 애기장대, 벼와 같은 모델 식물

Table 1. Arabidopsis ERF family genes by group or subgroup, and their protein structures and properties. The conserved motifs (CMs) found on both sides of the AP2/ERF domain (grey box) were shown in the protein structure column. Each of the different CMs was represented by the following distinct colors (CM1, white; incomplete CM1, dark grey; CM2, red; CM3, orange; CM4, green, CM5, blue; CM6, purple; CM7, pink; CM8, black). The locus IDs were represented using The Arabidopsis Information Resource (TAIR) databases.

Group (Subgroup)	Gene symbol	Gene name	Locus	Protein structure	Properties
Va	AtERF #001	WIN1/SHN1	At1g15360		Cutin, wax biosynthesis
Vb	AtERF #002	RAP2.11	At5g19790		Potassium uptake
Va	AtERF #003	ESE3	At5g26190		
Va	AtERF #004	SHN2	At5g11190		Cellulose increase, lignin decrease
Va	AtERF #005	SHN3	At5g25390		Cellulose increase, lignin decrease
VI	AtERF #063	CRF1	At4g11140		Cytokinin response
VI	AtERF #064	CRF2	At4g23750		Cytokinin, cold response, PIN7 activation, lateral root initiation
VI	AtERF #065	CRF3	At5g53290		Cold response, lateral root initiation
VI	AtERF #066	CRF4	At4g27950		
VI	AtERF #067	CRF6	At3g61630		Cold response
VI	AtERF #068	CRF5	At2g46310		Cytokinin response
VI	AtERF #069	CRF7	At1g22985		
VI	AtERF #070	CRF8	At1g71130		
VI-L	AtERF #116	CRF12	At1g25470		
VI-L	AtERF #117	CRF9	At1g49120		
VI-L	AtERF #118	CRF10	At1g68550		Cold response
VI-L	AtERF #119	CRF11	At3g25890		
VII	AtERF #071	HRE2	At2g47520		N-end rule, flooding, hypoxia response
VII	AtERF #072	AtEBP/RAP2.3	At3g16770		N-end rule, ACP-mediated flooding, hypoxia response, ABA sensitivity
VII	AtERF #073	HRE1	At1g72360		N-end rule, flooding, hypoxia response
VII	AtERF #074	RAP2.12	At1g53910		N-end rule, ACP-mediated flooding, hypoxia response, ABA sensitivity
VII	AtERF #075	RAP2.2	At3g14230		ABA sensitivity
VIIIa	AtERF #076	AtERF11	At1g28370		EAR motif,
VIIIa	AtERF #077	AtERF10	At1g03800		EAR motif
VIIIa	AtERF #078	AtERF4/RAP2.5	At3g15210		EAR motif, ABA sensitivity suppression
VIIIa	AtERF #079	AtERF8	At1g53170		EAR motif
VIIIa	AtERF #080	AtERF9	At5g44210		EAR motif
VIIIa	AtERF #081	AtERF12	At1g28360		EAR motif
VIIIa	AtERF #082	AtERF3	At1g50640		EAR motif
VIIIa	AtERF #083	AtERF7	At3g20310		EAR motif, ABA sensitivity suppression
VIIIb	AtERF #084		At1g80580		
VIIIb	AtERF #085	LEP	At5g13910		GA-responsive development
VIIIb	AtERF #086	PUCHI	At5g18560		Auxin-responsive development
VIIIb	AtERF #087		At1g28160		
VIIIb	AtERF #088		At1g12890		
VIIIb	AtERF #089	ESR1/DRN	At1g12980		Determination of Embryo fate
VIIIb	AtERF #090	ESR2/SOB2/DRNL	At1g24590		Determination of Embryo fate
IXa	AtERF #099	AtERF13	At2g44840		Defense against pathogen
IXa	AtERF #100	AtERF1	At4g17500		Defense against pathogen
IXa	AtERF #101	AtERF2	At5g47220		Defense against pathogen
Ixb	AtERF #102	AtERF5	At5g47230		Defense against pathogen, MPK3 phosphorylation
Ixb	AtERF #103	AtERF6	At4g17490		Defense against pathogen, MPK3 phosphorylation, retrograde signal
Ixb	AtERF #104	AtERF104	At5g61600		Defense against pathogen, MPK3 phosphorylation, retrograde signal
Ixb	AtERF #105	AtERF105	At5g51190		MPK3 phosphorylation, retrograde signal
Ixb	AtERF #106		At5g07580		
Ixb	AtERF #107		At5g61590		
IXc	AtERF #091	AtERF91	At4g18450		EDLL motif
IXc	AtERF #092	ERF1	At3g23240		EDLL motif, MED25 interaction, defense, ethylene response
IXc	AtERF #093	AtERF15	At2g31230		EDLL motif
IXc	AtERF #094	AtORA59	At1g06160		EDLL motif, MED25 interaction, defense
IXc	AtERF #095	ESE1	At3g23220		EDLL motif, ethylene response, salt stress resistance
IXc	AtERF #096	AtERF96	At5g43410		EDLL motif, ABA sensitivity
IXc	AtERF #097	AtERF14	At1g04370		EDLL motif, disease resistance
IXc	AtERF #098	AtERF98/TDR1	At3g23230		EDLL motif, salt stress resistance
Xa	AtERF #108	RAP2.6	At1g43160		Development
Xb	AtERF #109	AtERF109	At4g34410		Development
Xa	AtERF #110	AtERF110	At5g50080		Development
Xa	AtERF #111	ABR1	At5g64750		ABA sensitivity
Xc	AtERF #112		At2g33710		
Xa	AtERF #113	RAP2.6L	At5g13330		Development
Xa	AtERF #114	EBE	At5g61890		Development
Xa	AtERF #115	AtERF115	At5g07310		Development
Xb-L	AtERF #120		At2g20350		
Xb-L	AtERF #121		At5g67010		
Xb-L	AtERF #122		At5g67000		

Table 2. Rice ERF family genes by group or subgroup. The locus IDs were represented using the Institute for Genomic Research (TIGR) gene index databases.

Group (Subgroup)	Gene symbol	Locus	Group (Subgroup)	Gene symbol	Locus
Va	OsERF#003	Os02g10760	IXa	OsERF#092	Os01g54890
Va	OsERF#127	Os02g55380	IXa	OsERF#091	Os02g43790
Va	OsERF#129	Os04g56150	IXa	OsERF#093	Os04g46220
Va	OsERF#002	Os06g08340	IXb	OsERF#095	Os02g43820
Va	OsERF#001	Os06g40150	IXb	OsERF#097	Os04g46240
Vb	OsERF#005	Os07g10410	IXb	OsERF#094	Os04g46250
Vb	OsERF#006	Os07g38750	IXb	OsERF#096	Os10g41330
Vb	OsERF#004	Os12g39330	IXc	OsERF#088	Os03g05590
VI	OsERF#053	Os01g12440	IXc	OsERF#083	Os03g64260
VI	OsERF#054	Os01g46870	IXc	OsERF#128	Os04g18650
VI	OsERF#058	Os03g60120	IXc	OsERF#085	Os05g37640
VI	OsERF#056	Os05g25260	IXc	OsERF#084	Os05g49010
VI	OsERF#055	Os06g06540	IXc	OsERF#136	Os07g22730
VI	OsERF#057	Os07g12510	IXc	OsERF#086	Os07g22770
VI-L	OsERF#108	Os01g04020	IXc	OsERF#090	Os08g44960
VI-L	OsERF#138	Os08g27220	IXc	OsERF#123	Os09g39810
VI-L	OsERF#109	Os09g13940	IXc	OsERF#087	Os09g39850
VIIa	OsERF#068	Os01g21120	IXc	OsERF#089	Os10g30840
VIIa	OsERF#070	Os02g54160	Xa	OsERF#099	Os01g64790
VIIa	OsERF#060	Os03g08460	Xa	OsERF#098	Os02g34260
VIIa	OsERF#062	Os03g08470	Xa	OsERF#125	Os02g34270
VIIa	OsERF#069	Os03g08490	Xa	OsERF#101	Os04g32620
VIIa	OsERF#064	Os03g08500	Xa	OsERF#100	Os04g34970
VIIa	OsERF#066	Os03g22170	Xa	OsERF#118	Os11g06770
VIIa	OsERF#061	Os05g29810	Xa	OsERF#124	Os12g07030
VIIa	OsERF#071	Os06g09390	Xb	OsERF#103	Os02g52670
VIIa	OsERF#065	Os07g42510	Xb	OsERF#104	Os08g36920
VIIa	OsERF#067	Os07g47790	Xb	OsERF#102	Os09g28440
VIIa	OsERF#063	Os09g11480	Xc	OsERF#107	Os02g32140
VIIa	OsERF#072	Os09g26420	Xc	OsERF#105	Os05g36100
VIIa	OsERF#059	Os10g25170	Xc	OsERF#106	Os08g42550
VIIb	OsERF#073	Os09g11460	XI	OsERF#114	Os06g42910
VIIIa	OsERF#075	Os01g58420	XI	OsERF#110	Os12g41030
VIIIa	OsERF#132	Os02g06330	XI	OsERF#111	Os12g41040
VIIIa	OsERF#134	Os02g09650	XI	OsERF#112	Os12g41060
VIIIa	OsERF#077	Os04g52090	XII	OsERF#113	Os06g42990
VIIIa	OsERF#076	Os04g57340	XIII	OsERF#135	BAC99579.1a
VIIIa	OsERF#130	Os05g41760	XIV	OsERF#115	Os08g41030
VIIIa	OsERF#074	Os05g41780			
VIIIa	OsERF#121	Os06g47590			
VIIIb	OsERF#081	Os02g32040			
VIIIb	OsERF#079	Os02g38090			
VIIIb	OsERF#082	Os04g32790			
VIIIb	OsERF#078	Os07g47330			
VIIIb	OsERF#080	Os08g07700			

들을 포함한 다양한 단자엽과 쌍자엽 식물들에서 광범위하게 연구되어 왔다. DREB와 ERF 과 유전자들은 비록 위와 같은 전반적인 기능적 차이를 나타내나 그 조절기작의 복잡성과 동일 반응에 대한 협력적 상호작용등이 보고되고 있으므로 AP2/ERF에 대한 이해 및 적용을 위해서는 보다 면밀하고 통합적인 개념으로써 이들의 기능과 조절기작에 대해 고찰해야 할 것이다. Nakano 등(2006)의 분류법에 따라 애기장대의 DREB 과 유전자들은 I 부터 IV 그룹으로, ERF 과 유전자들은 V 부터 Xb-L 그룹으로 분류된다. 본 논문은 보다 다양한 범위의 식물 생리에 관여하는 ERF 과 유전자들에 대해 자세히 다루었으며 애기장대의 ERF 과 유전자들의 최근까지 밝혀진

기능과 조절기작들을 바탕으로 아래와 같이 그룹별로 정리하고 논의하였다.

ERF 유전자들의 그룹별 분류 및 기능과 조절기작

애기장대의 ERF 과 유전자들은 Nakano 등(2006)의 분류법에 따라 크게 V 부터 X 그룹으로 분류되며 각 그룹별 유전자들은 하위그룹 (subgroup)으로 세분화된다. V 그룹은 주로 세포벽 생합성에 관여하며 VI 그룹은 사이토키닌 (cytokinin) 신호전달을 통한 식물의 발달과 성장에 관여한다. VII 그룹은 N-end rule 단백질 분해 경로(Licausi et al. 2011)를 통한 저산소 조건에서의 식물 적응성에 관여하며 VIII 그룹은 EAR motif (ethylene

Fig. 2. WIN1/SHN1-mediated regulation for cell wall biosynthesis. Upregulated WIN1/SHN1 by MYB16 and MYB106 transcription factors activates cutin and wax biosynthesis genes *LACS2* long-chain acyl-CoA synthetase (*LACS2*) and cytochrome P450 86A7 (*CYP86A7*). SHN2 activates cellulose biosynthesis genes cellulose synthase complex (*CESA*), but represses lignin biosynthesis genes cinnamyl alcohol dehydrogenase (*CAD*) and 4-coumarate-CoA ligase (*4CL*). Arrows indicate activation (positive interactions); blocked line indicates repression (negative interaction).

response factor-associated amphiphilic repression motif)의 발현 억제 기능을 통한 ABA 반응성 조절에 관여한다. IX 그룹은 다른 그룹들에 비해 다양한 기능들에 관여하는데, 대표적으로 EDLL 활성 도메인과 MED25 (MEDIATOR25) 단백질을 매개로한 병원균 방어기작에 관여하며 X 그룹은 에틸렌 신호전달을 통한 식물 발달에 관여한다. 애기장대 ERF 과의 각 그룹별 유전자들의 구조와 특성에 대해 Table 1과 같이 요약하였으며 이들의 기능과 조절기작에 대해 아래와 같이 정리하여 기술하였다. 추가적으로, 벼 ERF 과 유전자들의 개연성있는 기능예측을 위한 그룹별 분류를 Table 2에 제시하였다.

Group V

V 그룹은 Va와 Vb 하위 그룹으로 나뉜다. Va 하위그룹은 4개의 유전자들로 구성되며 C-말단 부위에 그룹 특이적 보존 모티프인 conserved motif V-1 (CMV-1)과 CMV-2를 지닌다 (Nakano et al. 2006). Vb 하위그룹은 1개의 유전자가 속하며 CMV-4를 지닌다. Va 하위그룹에 속하는 *WAX INDUCER1/SHINE1* (WIN1/SHN1) 유전자는 큐티클층 (cuticle layer)을 구성하는 중합체인 큐틴 (cutin) 생합성에 관여한다. 큐틴은 C16, C18 ω -hydroxy fatty acids의 중합체로 구성되며 WIN1/SHN1은 이러한 큐틴의 생합성 유전자들의 발현을 조절한다. WIN1/SHN1은 큐틴 생합성 유전자들인 long-chain acyl-CoA synthetase (*LACS2*)와 cytochrome P450 86A7 (*CYP86A7*)의 발현을 유도하여 큐틴 및 왁스 생합성을 촉진한다. WIN1/SHN1은 *LACS2* 유전자의

프로모터에 직접 결합하여 활성화시키며 R2R3 MYB 전사인자인 MYB16과 MYB106이 직간접적으로 관여함이 보고되었다 (Kannangara et al. 2007, Oshima et al. 2013). SHN2와 SHN3는 그 기능성이 WIN1/SHN1과 중복되나 발현 양상에 있어서 다소 차이가 있다. SHN2는 꽃에서 높은 발현을 나타내는 반면 SHN3는 주로 중심 잎맥에서 발현되며 상처에 의해 발현 유도된다 (Aharoni et al. 2004). SHN2 유전자를 벼에서 과발현 시켰을 때 cellulose synthase complex (*CESA*) 유전자들의 발현 증가와 리그닌 생합성 관련 유전자인 cinnamyl alcohol dehydrogenase (*CAD*)와 4-coumarate-CoA ligase (*4CL*) 유전자들의 발현이 감소되었고 셀룰로스의 증가와 리그닌의 감소가 확인되었다 (Fig. 2). 이러한 SHN2의 조절기작은 바이오 에탄올 생산을 위한 벼의 개발을 위해 중요한 적용대상으로 고려될 수 있다 (Ambavaram et al. 2011).

Vb 하위그룹으로 분류되는 *RAP2.11*은 뿌리에서만 발현된다. *RAP2.11* 과발현 애기장대는 일차근 (primary root)의 길이가 짧아지며 뿌리털의 밀도가 줄어든다. 칼륨 결핍, ethephon, 활성 산소에 의해 *RAP2.11*의 발현이 유도되며 이 후 high-affinity K^+ uptake transporter (*AtHAK5*) 프로모터의 GCC-box에 결합하여 *AtHAK5*의 발현을 증가시킴으로써 칼륨 결핍시의 신호전달 경로를 활성화시킨다 (Kim et al. 2012). Va와 Vb 하위그룹간의 기능적 특성의 차이는 그룹별 보존 모티프의 차이로부터 기인하는 것으로 생각된다.

Fig. 3. Cytokinin and cold signaling pathway for CRF-mediated lateral root formation. Cytokinin or cold signal is perceived by *Arabidopsis* sensor histidine kinase (AHK) proteins, which initiate a signalling cascade through the phosphorelay that results in the nuclear translocation of phosphorylated *Arabidopsis* histidine-containing phosphotransfer proteins (AHPs). The AHP proteins activate *Arabidopsis* type-B response regulator proteins (ARRs), which bind to *cis* elements in the promoter of *cytokinin response factor 2* (*CRF2*) gene. Up-regulated *CRF2* protein induces auxin transporter *PIN-FORMED7* (*PIN7*) gene expression through binding to PIN CYTOKININ RESPONSE ELEMENT (PCRE) in the *PIN7* promoter, which further promotes lateral root formation. *CRF3* protein induced by unknown factor independently promotes lateral root formation. *CRF2* and *CRF3* gene expression is directly suppressed by PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 3-LIKE5 (*PIL5*) that induced by light. PM, plasma membrane; ERM, endoplasmic reticulum membrane; NM, nuclear membrane; P, phosphate; Arrows indicate activation; Blocked lines indicate repression; Arrow with dashed line indicates subcellular transport of protein.

Group VI and VI-L

Group VI는 8개의 유전자들로 구성되며 VI-L은 4개의 유전자들로 구성된다. 이들은 주로 사이토키닌 및 저온 반응성 신호 전달을 통한 식물 발달에 관여한다. Rashotte(2006) 등은 사이토키닌에 의해 발현이 유도되는 6개의 유전자들이 하나의 유전자군을 이루고 있음을 확인하였으며 이들을 *CYTOKININ RESPONSIVE FACTOR 1* (*CRF1*) 부터 *CRF6*로 각각 명명하였다. 이들을 포함한 더 넓은 범위의 유전자군에 나머지 6개의 유전자들이 속하며 각각 *CRF7* 부터 *CRF12*로 명명되었다. 한편, 불완전한 AP2/ERF domain을 지니는 *CRF9* - *CRF12* 유전자들은 별도의 VI-L 그룹으로 분류된다(Nakano et al. 2006). VI 그룹 단백질들 중 *CRF1* - *CRF6*은 “QCLCSPTSVLRS”로 대표

되는 그룹 특이적 CMVI-3를 C-말단 부위에 지니는 반면 *CRF7* 과 *CRF8*은 CMVI-3가 결여되어있다. 사이토키닌에 의해 *CRF2*, *CRF5*, *CRF6*은 발현이 유도되며(Rashotte et al. 2006) 저온에 의해 *CRF2*, *CRF3*, *CRF6*, *CRF10*은 발현이 유도된다. 특히 *CRF2*와 *CRF3*는 강한 저온 반응성을 나타낸다(Jeon et al. 2016). Fig. 3에서 처럼, 사이토키닌의 신호전달과정은 *Arabidopsis* sensor histidine kinases (AHKs)와 *Arabidopsis* histidine-containing phosphotransfer proteins (AHPs)를 경유하는 인산기 전달과, 인산화된 AHPs의 핵내로의 이동을 통한 사이토키닌 신호전달의 양성 조절자 (positive regulator)인 *Arabidopsis* type-B response regulators (type-B ARRs)의 인산화 과정을 거친다. 인산화된 ARR 단백질들은 식물 발달 및 성장에 관여하는 다양한 하위유

전자들의 발현을 조절한다(Kakimoto 2003). 저온 반응도 이러한 사이토키닌의 신호전달 시스템을 공유한다. 저온 반응 시 *ARR1*은 *CRF2* 프로모터에 직접적으로 결합하여 발현 유도함으로써 애기장대의 결뿌리 (lateral roots) 형성을 촉진시키며 저온 조건에 대처하기 위한 뿌리의 형태 형성을 유도한다. *CRF3*는 *CRF2*와 달리 *ARRs*를 경유하는 신호전달과정을 거치지 않으며 저온에 대해 독립적으로 반응하여 결뿌리형성을 촉진한다(Jeon et al. 2016). 사이토키닌을 매개로한 식물 발달은 옥신 (auxin)의 조절과도 결부되어있으며 사이토키닌과 옥신의 상호작용에 *CRFs*가 중요하게 관여한다. 옥신 transporter인 *PIN-FORMED7* (*PIN7*)유전자의 프로모터는 *PIN CYTOKININ RESPONSE ELEMENT* (PCRE)를 지니고 있으며 *CRF2*에 의해 인식되어 *PIN7*의 발현이 조절된다. 이를 통한 옥신 분배의 활성화는 결뿌리 발달에 영향을 미친다(Šimášková et al. 2015). 사이토키닌 신호전달의 조절에는 빛 관련 전사인자인 *PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 3-LIKE5* (*PIL5*)가 관여한다. *PIL5*는 *CRF1*, *CRF2*, *CRF3*의 프로모터에 직접 결합하여 발현을 억제한다(Oh et al. 2009). 이러한 결과는 *CRF* 유전자들의 조절을 통한 식물발달에 빛에 의한 신호전달 과정이 관여함을 나타낸다.

Group VII

VII 그룹은 5개의 유전자들로 구성되며 침수와 저산소 저항성 및 ABA 반응성에 관여한다. 5개의 유전자들 모두 N-말단에 “MCGGAIL/L”로 대표되는 CMVII-1을 지니며 이 부위는 N-end rule 단백질 분해 경로에서 E3 ligase의 기질로써 작용한다. Fig. 4에서 처럼, HYPOXIA RESPONSIVE ERF 1 (*HRE1*)과 *HRE2*의 경우 N-말단의 메티오닌이 MET AMINOPEPTIDASEs (MetAPs)에 의해 제거되어 시스테인이 노출되며 산소 또는 산화질소 (NO)가 풍부한 정상 조건 (normoxia)에서 PLANT CYS OXIDASEs (PCOs)에 의해 산화된다(Weits et al. 2014). 이후 ARGINYL tRNA TRANSFERASES 1/2 (*ATE1/2*)에 의해 N-말단에 아르기닌이 결합하며 N-end rule E3 ligase인 *PROTEOLYSIS6* (*PRT6*)에 의해 인식되어 유비퀴틴화 (ubiquitination)에 의한 단백질 분해 과정을 겪는다(Licausi et al. 2011). 반면, 침수와 저산소 조건 (hypoxia)에서는 시스테인의 산화가 억제되어 *HRE1* 과 *HRE2*는 안정하게 유지되며 저산소 반응성 유전자인 *ALCOHOL DEHYDROGENASE1* (*ADH1*)을 활성화시킨다(Gibbs et al. 2015). *RAP2.3*과 *RAP2.12*의 조절 양상은 *HRE* 단백질들과 차이가 있다. 이들은 정상조건에서 plasma

membrane에 위치한 acyl-CoA binding proteins (ACBPs)의 ankyrin-domain과 결합하여 단백질 분해과정으로부터 보호된다. 저산소 조건에서 이러한 결합은 해제되어 *RAP2.3*과 *RAP2.12*는 핵 내로 이동하여 저산소 반응성 유전자들을 활성화시킨다(Licausi et al. 2011, Kosmacz et al. 2015). *RAP2.12*는 저산소 조건에서 *Hypoxia Response Attenuator1* (*HRA1*)의 발현을 유도한다. *HRA1*은 *RAP2.12*와 물리적으로 결합하여 *RAP2.12*의 활성을 억제하며 이러한 피드백 억제 방식은 세포 내 산소함량 변동에 유연하게 대응함으로써 항상성 유지에 기여한다(Giuntoli et al. 2017). 한편, ACBPs와의 결합이 해제되어 활성화된 *RAP2.12*, *RAP2.2*, *RAP2.3*은 basic leucine zipper 전사인자인 *ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5* (*ABI5*) 유전자의 프로모터에 결합하여 발현 유도하여 ABA에 대한 감수성을 증가시켜 발아를 억제한다. 산화질소 농도가 증가되면 이들 단백질의 분해가 가속화 되어 *ABI5*의 발현이 감소되어 발아가 촉진된다(Gibbs et al. 2014, 2015). 이러한 VII 그룹 ERF 단백질들과 ABA와의 관련성은 산화질소의 휴면타파제로써의 기능을 보고한 기존의 연구에 부합한다(Bethke et al. 2007).

VII 그룹에 속하는 대표적인 벼 유전자는 *Sub1* 유전자들이다(Fukao and Bailey-Serres 2008, Fukao et al. 2011). 침수 저항성이 강한 *indica* 품종에만 존재하는 *Sub1A*는 N-end rule 단백질 분해 경로를 거치지 않는 반면 애기장대의 VII 그룹 ERF 단백질들과 유사한 기능적 특성을 보인다. *Sub1A* 유전자는 침수에 반응하여 증가하는 에틸렌에 의해 발현이 유도되며, 증가한 *Sub1A*는 GA gibberellic acid (GA)반응성 유전자들의 발현을 억제하는 *SLENDER RICE1* (*SLR1*)과 *SLENDER RICE1 LIKE1* (*SLRL1*)의 발현을 유도하고 비활성 GA 생합성 유전자인 *GA 2-oxidase*의 발현을 증가시켜 당 대사와 성장을 정지시킴으로써 생존을 유지한다. 침수 상황에서 벗어나면 세포 내 활성산소가 급격히 증가하는데 이때 *Sub1A*는 활성산소의 축적을 억제하며 ABA 감수성을 증가시켜 잎의 탈수를 억제한다(Fukao and Bailey-Serres 2008).

Group VIII

Group VIII은 8개의 유전자들로 구성된 VIIIa와 7개의 유전자들로 구성된 VIIIb 하위그룹으로 구분된다. VIIIa 구성원들은 그룹 특이적 보존 서열로서 EAR 모티프로 명명되는 CMVIII-1을 공통적으로 지닌다. “DL[N/S]xxP”로 특징지어지는 ethylene-responsive element binding factor-associated amphiphilic repression (EAR) 모티프는 식물에서 처음으로 보고된 활성 억제 조절자

Fig. 4. Oxygen-dependent regulation of ERF VII proteins. All ERF-VII proteins contain methionine (Met) and cysteine (Cys) at the N-terminal. The first Met is cleaved by methionine aminopeptidases (MetAPs). Under O₂ or NO-replete conditions (normoxia), the exposed Cys is oxidized (*Cys) by plant cysteine oxidases (PCOs). An arginine (Arg) residue is added to the oxidized cysteine by arginyl t-RNA transferases 1/2 (ATE1/2), which is ubiquitinated by an E3 ubiquitin ligase, PROTEOLYSIS6 (PRT6). The ubiquitinated ERF-VII proteins are degraded in the cytosol. This process is called as N-end rule pathway (Licausi et al., 2011). Alternatively, RAP2.12, physically interacts with plasma membrane-localized acyl-CoA-binding proteins (ACBPs), which protects RAP2.12 from the N-end rule pathway. Under oxygen deprivation (hypoxia), oxidation of cysteine is inhibited, and the ERF VII proteins escaped from the N-end rule pathway migrate to the nucleus and activate hypoxia-responsive genes, *ALCOHOL DEHYDROGENASE 1 (ADH1)* and *ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (ABI5)*. *HYPOXIA RESPONSE ATTENUATOR 1 (HRA1)* expression is up-regulated by RAP2.12 as well, and HRA1 physically interacts with RAP2.12, which leads to repress hypoxia-responsive gene expression. PM, plasma membrane; NM, nuclear membrane. Arrows with dashed line indicate subcellular transport of protein; The indication of red crosses is that the subcellular transport is not available; Blocked lines indicate repression.

Fig. 5. The transcriptional repression model of ERF VIIIa proteins. GCC-box is the site for ERF VIIIa protein binding. EAR motif of the ERF VIIIa proteins physically interact with histone deacetylase complex composed of TOPLESS (TPL), SWI-INDEPENDENT 3 (SIN3), SIN3 ASSOCIATED POLYPEPTIDE 18 (SAP18), and HISTONE DEACETYLASE 19 (HDA19), catalyzing histone deacetylation for transcriptional repression of target genes. Ac, acetyl group; Blocked line indicates transcriptional repression.

(active repressor)로서, Group VIIIa ERF들과 몇몇 zinc finger 단백질에서 발견된다(Ohta et al. 2001). Fig. 5와 같이 EAR 모티프는 TOPLESS (TPL), SWI-INDEPENDENT 3 (SIN3), SIN3 ASSOCIATED POLYPEPTIDE 18 (SAP18), HISTONE DEACETYLASE 19 (HDA19)과 같은 histone deacetylase 복합체 구성 단백질들과 결합하여 염색질 (chromatin) 수준에서 목적 유전자의 발현을 억제한다(Kagale and Rozwadowski 2011). 따라서 이들의 억제 능력은 개별 프로모터 수준에서 작용하는 일반적인 전사인자에 비해 경쟁적 우위를 나타낸다(Hiratsu et al. 2003). VIIIa 그룹의 유전자들은 EAR 모티프를 통한 억제 기능을 바탕으로 ABA 반응성에 관여한다. AtERF7은 ABA 반응 조절에 관여하는 Ser/Thr protein kinase 3 (PKS3)에 의해 인산화되며 SIN3, HDA19과 결합하여 복합체를 이루어 ABA 반응성 유전자들의 발현을 조절한다. AtERF7 과발현 애기장대에서 기공세포의 ABA에 대한 감수성 감소로 잎에서의 수분손실이 확인되었다(Song et al. 2005). AtERF4의 경우 에틸렌, 자스몬산, 살리실산, ABA에 의해 발현이 유도되며 애기장대에서의 과발현시 ABA 반응성 유전자 들인 *ABI2*, *rd29B*, *rab18*들의 발현이 억제되어 ABA 민감성이 감소하였다. 이 외에도 *AtERF10*, *AtERF11*, *AtERF12* 유전자들은 transactivation assay를 통해 억제 조절자로서의 기능이 검증되었다.(Yang et al. 2005).

VIIIb 그룹은 VIIIa 와는 달리 EAR 모티프와 CMVIII-2가 결합되어 있으며 호르몬에 반응하는 식물 발달과 배아 형태 형성에 관여한다. LEAFY PETIOLE (LEP)는 GA에 의해 유도되는 발아 및 유식물 (seedling) 발달에 양성 조절자로서 작용한다. LEP 돌연변이 애기장대는 하배축 (hypocotyl)의 길이가 짧아지며 잎과 유사한 형태의 엽병 (petiole)이 관찰된다(Ward et al. 2006). *PUCHI* 유전자는 세포분열 양상 조절을 통한 곁뿌리 원시세포 (lateral root primordium)발달에 관여한다. 옥신 반응성 인자인 auxine response factor 7 (ARF7)과 ARF19은 *PUCHI* 유전자 프로모터의 옥신 반응성 elements에 결합하여 *PUCHI*의 발현을 유도한다. ARF7과 ARF19는 또 다른 조절 단백질인 LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN16 (LBD16)과 LBD18의 발현을 유도하며 이들은 PUCHI와 상호 작용하여 곁뿌리 원시세포 발달을 촉진한다(Kang et al. 2013). ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1 (ESR1)과 ESR2는 Homeodomain leucine zipper (HD-ZIP) 단백질의 PAS-like domain에 결합하며 이 복합체는 배아 (embryo)의 형태 형성 조절에 관여한다(Chandler et al. 2007).

Group IX

IX 그룹은 IXa, IXb, IXc 하위그룹으로 분류되며 ERF 과의 그룹들 중 가장 많은 17개의 유전자들이 속한다. 이들은 질병 및 병원균 저항성, 생물적 비생물적 스트레스에 대한 반응 등 다양하고 광범위한 기능적 특성들을 지닌다. IXa와 IXb는 N-말단에 CMIX-2를 지니며 (*AtERF13* 제외) IXc는 C-말단에 EDLL 활성 도메인으로 특징지어지는 CMIX-1을 공통적으로 지닌다. IXa 하위그룹의 *AtERF1*, *AtERF2*, *AtERF13*은 공통적으로 CMIX-3를 지니며 에틸렌, 자스몬산, 살리실산 신호전달을 통한 병 저항성에 관여하며 병원성 박테리아인 *PstDC3000* 감염시 발현 유도된다. Fig. 6에서 나타난 것과 같이, *AtERF1*과 *AtERF13*은 *AtERF2*에 비해 감염 초기에 반응하며 *AtERF1*은 자스몬산과 살리실산에 의해 발현 유도되는 반면 *AtERF13*은 자스몬산에 의해서만 발현 유도된다(Oñate-Sánchez and Singh 2002). *AtERF2*는 자스몬산 반응성 방어기작 관련 유전자인 *PLANT DEFENSIN 1.2* (*PDF1.2*)에 대한 양성 조절자이다. 한편 EAR 모티프를 지니는 VIIIa 하위그룹의 *AtERF4*는 살리실산에 의해 발현 유도되며 자스몬산 반응성 유전자들에 대한 음성 조절자로서 기능을 한다(McGrath et al. 2005). 이러한 ERF 단백질들을 통한 자스몬산과 살리실산의 상호 길항작용은 기생 영양체 저항성 (biotroph resistance)과 사물영양체 저항성 (necrotroph resistance) 반응 사이의 정교한 조절에서 중요한 기능을 담당한다.

IXb 하위그룹은 6개의 유전자들이 속하며 병저항성 뿐만 아니라 mitogen-activated protein kinases (MPKs)에 의한 인산화를 통해 다양한 외부환경 및 식물생장에 대한 조절에 관여한다. *AtERF5*와 *AtERF6*는 자스몬산, 살리실산 반응성 유전자들의 조절을 통해 병원성 균주에 대한 저항성에 관여한다(Moffat et al. 2012). *AtERF5*는 *AtERF6*, MPK3, MPK6, scarecrow-like (SCL13) 및 EAR 모티프를 지니는 *AtERF8*과 물리적 결합을 이룬다는 것이 확인되었으며(Son et al. 2012) *AtERF6*는 MPK6에 의해 인산화되어 하위 신호 전달에 관여한다. 이러한 상호작용은 키틴 (chitin) 신호전달 및 병원성 곰팡이인 *A. brassicicola*에 대한 저항성을 억제시키는 반면 살리실산 신호전달 및 병원성 박테리아인 *P. Syringae*에 대한 저항성을 증가시킨다(Son et al. 2012). 병저항성 외에도 다양한 생물, 비생물적 스트레스 조건에 반응하여 발현 유도되는 *AtERF6*는 항산화 효소 유전자들의 발현을 상향 조절하여 세포 내 활성산소 수준을 조절하는 양성 조절자로서 기능한다(Sewelam et al. 2013). MPK6는 *AtERF6*뿐만 아니라 *AtERF104*와 *AtERF105*를 인산화 시키며

Fig. 6. Crosstalk model between SA and JA involved with ERF IX proteins-mediated pathogen resistance. Pathogen attacks activate salicylic acid (SA) and jasmonic acid (JA) signal pathway, which leads to induction of *ERF* IXa genes (*AtERF1*, *AtERF2*, and *AtERF13*) and IXc genes (*ERF1* and *AtORA59*) containing EDLL activation motif, resulting in induction of defense gene, *PLANT DEFENSIN 1.2* (*PDA1.2*). *AtERF4* (ERF VIIa) induced by SA acts as a dominant repressor of JA-responsive defense genes. *MEDIATOR25* (*MED25*) induced by JA signaling physically interacts with EDLL motif of IXc proteins and acts as a bridge between IXc proteins and RNA polymerase II. The blocked line under *AtERF4* indicates the repression of *PDA1.2* gene expression.

인산화된 *AtERF104*는 flagellin fragment 22 (FLG22)에 의해 유도된 에틸렌에 의해 MPK6로부터 분리되어 병 저항성 및 식물성장과 관련된 다양한 유전자들의 발현 조절에 관여한다 (Bethke et al. 2009). 한편 광반응에 의한 엽록체 유래의 retrograde 신호 전달은 MPK6에 의해 인산화된 *AtERF6*, *AtERF104*, *AtERF105*들이 활성화되어 하위의 열충격 단백질 (heat shock protein)들을 활성화 시킴으로써 증가한 광량에 대한 식물의 적응성을 높이는 데에 관여한다 (Vogel et al. 2014).

IXc 하위그룹은 8개의 유전자들로 구성되며 모두 C-말단에 EDLL 활성 도메인을 지닌다. 진핵 생물에서 특정 전사인자와 RNA polymerase II를 연결하는 단백질 복합체인 Mediator complex는 애기장대에서 약 30개의 subunit들이 규명되었으며 그 중 *AtMED25* (*MEDIATOR25*)는 ERF의 EDLL 활성 도메인과 결합하여 자스몬산 신호전달 관련 병 저항성 조절에 관여한다. Fig. 6에서 처럼, 자스몬산에 의해 유도되는 *ERF1*과 *AtORA59* 단백질은 EDLL 활성 도메인을 통해 *AtMED25*와 결합하여 *PDA1.2* 유전자 발현을 상향 조절함으로써 방어기작을 활성화 시킨다 (Cevik et al. 2012). *ERF1*은 대표적인 에틸렌 반응성 유전자로서 에틸렌 신호 전달에 의해 발현 유도되며 증가된 *ERF1*은 하위의 에틸렌 반응성 유전자들을 상향 조절하

며 *ERF1* 과발현체는 열, 가뭄 염에 대한 저항성을 나타낸다 (Cheng et al. 2013).

Small ERF로 알려진 *EARLY SOMATIC EMBRYOGENESIS 1* (*ESE1*), *AtERF96*, *AtERF14*, *AtERF98* 유전자들은 AP2/ERF DNA 결합 도메인 외에 오직 CMX-1만을 지니고 있다. *ESE1*은 *ERF1*과 같이 에틸렌 신호전달에 의해 발현 유도되며 *ESE1*에 의해 *RESPONSIVE TO DEHYDRATION 29A* (*RD29A*), *COLD-REGULATED 15A* (*COR15A*)와 같은 염 저항성 관련 유전자들이 상향 조절된다 (Zhang et al. 2011). *AtERF96*은 ABA 반응 활성화에 관여하며 과발현시 잎 크기의 감소 및 개화 지연이 나타난다 (Wang et al. 2015). *AtERF14* 과발현체는 성장억제가 나타나며 *PR-1*, *PR-2*와 같은 병 저항성 유전자들의 발현이 억제된다 (Oñate-Sánchez et al. 2007, Camehl and Oelmüller 2010). *AtERF98*은 ascorbic acid 생합성 유전자인 *GMP/VTG1* (*GDP-D-Man pyrophosphorylase*) 프로모터에 결합하여 발현을 상향 조절하며 과발현시 염 저항성이 강화된다 (Zhang et al. 2012).

Group X

X 그룹은 11개의 유전자들로 구성되며 Xa, Xb, Xc, Xb-L 하위그룹으로 나뉜다. Xa 하위그룹은 공통적으로 CMX-1을

Fig. 7. Ethylene-dependent regulation of plant development. In the absence of ethylene, CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE 1 (CTR1) protein kinase phosphorylates the c-terminal domain of ETHYLENE INSENSITIVE 2 (EIN2), preventing its nuclear localization. In addition, AtERF110 is activated through phosphorylation by CTR1 then relocated to nucleus and promote *AP1* gene expression for maintaining normal bolting. In the presence of ethylene, ETHYLENE RECEPTOR 1 (ETR1) and CTR1 are inactivated. The lack of phosphorylation on EIN2 triggers the cleavage and nuclear localization of EIN2 C-terminal domain, which activates transcription factor EIN3. The activated EIN3 directly promotes *AtERF110* gene expression, however non-phosphorylated (inactive) AtERF110 proteins are increased due to the reduced kinase activity of CTR1, resulting in delayed bolting time. The activated EIN3 can also promote *AtERF109*, *AtERF1*, and *ORA47* gene expression, which leads to cell divisions in vascular meristems. ERM, endoplasmic reticulum membrane; NM, nuclear membrane; P, phosphate; Arrows indicate activation; Arrows with dashed line indicate subcellular transport of protein.

포함하나 Xc는 이 모티프를 포함하지 않는다. 반면 Xb는 CMX-1이외에도 CMX-2를 지니며 Xb-L 구성원들은 이 두 가지 모티프 이외에 CMX-3까지도 포함한다. X 그룹의 유전자들은 공통적으로 식물의 발달에 관여하는 특성을 나타내지만 병저항성, 염, 가뭄 등 생물적 및 비생물적 스트레스 반응에 관여하는 특성도 나타낸다. Fig. 7에서 나타낸 바와 같이, AtERF110은 에틸렌 신호전달 과정에서의 인산화를 통해 애기장대 꽃대생성 조절에 관여한다. 에틸렌은 개화 시기 조절에 있어서 식물 종에 따라 양성 또는 음성 조절자로서 작용하는 양면성을 나타낸다. 에틸렌 신호전달 경로의 CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE 1 (CTR1)의 kinase 활성은 정상 조건에서 ETHYLENE INSENSITIVE2 (EIN2)뿐만 아니라 AtERF110을 인산화 시켜 하위의 개화관련 homeotic 유전자인 *APETALAI* (*AP1*) 발현을 상향 조절하여 정상적인 꽃대 생성이 유지된다. 반면 에틸렌 처리 조건에서는 에틸렌 신호전달 과정을

통해 *AtERF110* 발현이 증가하나 비활성화된 CTR1의 영향으로 AtERF110의 인산화가 저해되어 비활성 AtERF110이 증가하며 그에 따라 꽃대생성이 정상조건보다 지연된다(Zhu et al. 2013). 이것은 전사 (transcriptional) 및 번역 후 (posttranslational) 수준에서의 독특한 이중 조절 방식을 잘 보여준다.

*AtERF109*는 관다발 조직 발달에 관여 한다. Receptor kinase PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM (PXY)는 관다발 세포 분열의 방향성을 지정하는 단백질인 CLV-3/ESR1-LIKE 41 (CLE41)과 결합하는 수용체로, 하위의 WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 4 (WOX4)를 통한 신호전달을 통해 관다발 전형성층 (procambium)의 세포분열을 촉진한다. *pxy* 또는 *wox4* 돌연변이의 경우 에틸렌 생합성 유전자인 *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase 6* (*ACS6*)의 발현이 활성화되어 에틸렌이 증가하며 에틸렌 신호전달 경로를 통해 *AtERF1*과 *AtERF109* (IXa 하위그룹), *ORA47* (DREB 과)이 발현 유도되어 전형성층 세포 분열이

활성화 된다(Etchells et al. 2012). 이것은 AtERF109를 포함하는 서로 다른 종류의 AP2/ERF 단백질들 간의 상호작용에 의해 PXY 신호전달의 대체 경로가 활성화 될 수 있음을 보여준다.

*RAP2.6*과 *RAP2.6L*은 주로 식물의 초기 영양 생장과 생식 생장에 관여하며 유식물 단계 및 초기 화서 (inflorescence) 발달 단계에서 높은 발현을 나타내나 화서의 조직별 발현 양상에 있어서 차이를 보인다. *RAP2.6*은 꽃잎과 심피, 꼬투리에서 발현되는 반면 *RAP2.6L*은 꽃가루에서 발현된다. 이것은 꽃과 종자의 발달에 있어서 *RAP2.6*과 *RAP2.6L*이 각각 특정 영역에서 기능하고 있음을 나타낸다(Krishnaswamy et al. 2011). 또한, *RAP2.6*은 저온 반응성인 *DREB1* 유전자들에 의해 발현 유도되어 저온 저항성에 관여한다(Fowler and Thomashow 2002). *RAP2.6L*의 경우 ABA 신호전달을 촉진하여 침수 저항성을 강화시킨다. *RAP2.6L* 과발현체는 ABA 생합성 및 신호전달 관련 유전자들인 *ABA deficient 1 (ABA1)*과 *ABA-hypersensitive 1 (ABH1)*의 발현을 유도하여 기공 폐쇄 및 혐기성 대사 유전자인 *ADHI*의 발현을 유도함으로써 침수에 대한 저항성을 높인다(Liu et al. 2012).

*ABA repressor1 (ABR1)*은 X 그룹 구성원들 중 N-말단과 C-말단이 가장 확장된 형태의 구조를 보인다. *ABR1*은 ABA와 저온, 염, 가뭄과 스트레스에 의해 발현이 유도되어 ABA와 스트레스 반응성 유전자들의 발현을 억제한다. 따라서 *abr1* 돌연변이는 종자 발아와 뿌리 성장에 있어서 ABA 과민성 표현형을 나타내며 스트레스에 대한 민감성을 증가시킨다(Pandey et al. 2005).

*ERF BUD ENHANCER (EBE)*는 증식하는 세포의 S phase에서 강하게 발현된다. EBE 단백질은 세포 주기 조절과 휴면타파 관련 유전자들의 발현을 유도하는 것으로 보이며 *EBE* 유전자 과발현시 세포 증식 및 캘러스 성장, 결눈 (axillary bud)생성, 줄기 형성이 촉진되는 표현형을 나타낸다(Mehmia et al. 2013).

AtERF115는 뿌리 분열조직 중심에 있는 매우 낮은 세포 증식률을 보이며 줄기세포 상태를 유지하는 부정지중심 (quiescent center)에서 세포분열을 조절한다. 브라시노스테로이드 신호전달에 의해 *AtERF115*의 발현이 조절되며 뿌리성장, 세포증식, 캘러스 형성에 관여하는 sulfonated pentapeptide 유전자인 *PHYTOSULFOLINE PRECURSOR5 (PSK5)*의 프로모터에 결합하여 발현을 유도한다(Heyman et al. 2013).

결 론

ERF 과 유전자들이 다양한 식물생리에 미치는 광범위한 역할

은 작물의 형질개선을 위한 매력적인 적용 대상이다. 지금까지 애기장대를 비롯한 여러 식물체 들에서 많은 ERF 과 유전자들이 규명되어 왔으나 방대한 과의 구성과 조절기작의 복잡성에 기인하여 ERF 과 유전자들의 기능 규명은 아직 많은 부분 미지의 영역으로 남아있다. 작물 형질 개선을 위한 유용 *AP2/ERF* 유전자 선정은 중요한 선결과제이며 유전자들의 계통적, 기능적 분류는 기능 예측을 위해 필수적이라 할 수 있다. 애기장대의 ERF 과 유전자들의 분류 양상을 살펴보면 V 그룹부터 IX 그룹과 같이 여러 개의 그룹 특이적 보존 모티프를 지니는 유전자들은 특정 기능과 조절기작이 그룹 특이적으로 나타나는 경향을 보이는 반면 X 그룹과 같이 비교적 간단한 구조의 유전자들은 AP2 도메인 본연의 식물발달 조절 기능을 보임을 알 수 있다. 이러한 경향성은 그룹 특이적 보존 모티프가 특정 기능성 및 조절기작과 밀접하게 관련되어 있음을 보여준다. 따라서 이와 같은 분류 방식은 벼와 같이 유전체 연구를 통해 ERF 과 유전자군의 분류가 가능한 여러 식물체들에 적용하여 ERF 과 유전자들의 개연성있는 기능 예측이 가능하게 한다(Table 2).

ERF 단백질들은 인식하는 프로모터 결합 부위가 매우 다양하고 결합 특이성이 엄격하지 않은 경향이 있으며 여러 가지 조건들에 대해 복합적인 네트워크로 관여하는 조절양상을 보이고 있다. 생명공학을 통한 ERF 과 유전자의 식물체 적용시 성장 저해 또는 대사체 불균형 등이 나타나는 경우가 많으며 원하는 형질만을 안정적으로 획득하기는 쉽지 않다. 따라서 ERF 단백질들의 조절 과정에 대한 보다 심도 있는 이해를 위해 DNA 결합 메커니즘 규명과 결합 특이성에 영향을 미치는 단백질들 간의 상호 결합에 대한 추가적 연구가 필요하다. 전사 후, 번역 후 조절양상 또한 향후 지속적으로 연구된다면 AP2/ERF 조절 네트워크에 대해 더욱 통합적으로 이해할 수 있을 것이며, 작물개량 연구에 효과적으로 응용될 수 있으리라 기대된다.

적 요

APETALA2/ethylene response factor (AP2/ERF) 전사인자들은 생물적, 비생물적 스트레스 반응 및 식물의 발달과 성장에 관여한다. *AP2/ERF* 유전자들은 다섯 개의 과 (family) (AP2, DREB, ERF, RAV, soloist)로 분류되며 대부분의 유전자들이 DREB와 ERF 과에 속한다. 지금까지 유전체 분석을 통해 다양한 식물 종의 DREB와 ERF 과 유전자들의 계통 분류가 수행되었으며, AP2/ERF 특이적 DNA 결합 도메인의 상동성 및 엑손과 인트론의 배열, 그룹 특이적 보존 모티프들 (conserved motifs)

의 유사성을 바탕으로 한 분류가 수행되었다. 이러한 분류 방식은 *AP2/ERF* 유전자의 기능 예측을 위한 개연성 있는 정보를 제공한 다. 본 논문에서는 *AP2/ERF* 유전자들의 분류 및 구조, 진화, 기능 등에 대한 전반적 개요를 기술하였으며 애기장대 ERF 과 유전자들의 기능적 분류를 바탕으로 지금까지 밝혀진 이들의 기능과 조절기작들을 그룹별로 정리하여 요약하였다. 이를 통해 애기장대 ERF 과 유전자들의 그룹 특이적 보존 모티프들은 그룹 특이적 기능 및 조절기작들과 연계하여 나타남을 확인하였으며, 이와 같은 분류 방식을 통한 효율적인 ERF 과 유전자들의 기능예측은 다양한 식물체들의 형질개량에 유용하게 적용될 수 있음을 보여준다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 농업과학원 연구사업 (과제 번호: PJ010027)과 차세대 바이오그린 21 연구사업 (과제번호: PJ011094)의 지원에 의해 수행되었다.

REFERENCES

- Aharoni A, Dixit S, Jetter R, Thoenes E, van Arkel G, Pereira A. 2004. The SHINE clade of AP2 domain transcription factors activates wax biosynthesis, alters cuticle properties, and confers drought tolerance when overexpressed in Arabidopsis. *Plant Cell* 16: 2463-2480.
- Ambavaram MM, Krishnan A, Trijatmiko KR, Pereira A. 2011. Coordinated activation of cellulose and repression of lignin biosynthesis pathways in rice. *Plant Physiol* 155: 916-931.
- Bethke G, Unthan T, Uhrig JF, Pöschl Y, Gust AA, Scheel D, Lee J. 2009. Flg22 regulates the release of an ethylene response factor substrate from MAP kinase 6 in Arabidopsis thaliana via ethylene signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 8067-8072.
- Bethke PC, Libourel IG, Aoyama N, Chung YY, Still DW, Jones RL. 2007. The Arabidopsis aleurone layer responds to nitric oxide, gibberellin, and abscisic acid and is sufficient and necessary for seed dormancy. *Plant Physiol* 143: 1173-1188.
- Camehl I, Oelmüller R. 2010. Do ethylene response factors-9 and -14 repress PR gene expression in the interaction between *Piriformospora indica* and Arabidopsis? *Plant Signal. Behav* 5: 932-936.
- Çevik V, Kidd BN, Zhang P, Hill C, Kiddle S, Denby KJ, Holub EB, Cahill DM, Manners JM, Schenk PM, Beynon J, Kazan K. 2012. MEDIATOR25 acts as an integrative hub for the regulation of jasmonate-responsive gene expression in Arabidopsis. *Plant Physiol* 160: 541-555.
- Chandler JW, Cole M, Flier A, Grewe B, Werr W. 2007. The AP2 transcription factors DORNROSCHEN and DORNROSCHEN-LIKE redundantly control Arabidopsis embryo patterning via interaction with PHAVOLUTA. *Development* 134: 1653-1662.
- Cheng MC, Liao PM, Kuo WW, Lin TP. 2013. The Arabidopsis ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 regulates abiotic stress-responsive gene expression by binding to different cis-acting elements in response to different stress signals. *Plant Physiol* 162: 1566-1582.
- Dossa K, Wei X, Li D, Fonceka D, Zhang Y, Wang L, Yu J, Boshou L, Diouf D, Cissé N, Zhang X. 2016. Insight into the AP2/ERF transcription factor superfamily in sesame and expression profiling of DREB subfamily under drought stress. *BMC Plant Biol* 16: 171.
- Elliott RC, Betzner AS, Huttner, Oakes MP, Tucker WQJ, Gerentes D, Perez P, Smyth DR. 1996. AINTEGUMENTA, an APETALA2-like gene of Arabidopsis with pleiotropic roles in ovule development and floral organ growth. *Plant Cell* 8: 155-168.
- Etchells JP, Provost CM, Turner SR. 2012. Plant vascular cell division is maintained by an interaction between PXY and ethylene signalling. *PLoS Genet* 8: e1002997.
- Fowler S, Thomashow MF. 2002. Arabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *Plant Cell* 14: 1675-1690.
- Fukao T, Bailey-Serres J. 2008. Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLRL1 restriction of gibberellin responses in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 16814-16819.
- Fukao T, Yeung E, Bailey-Serres J. 2011. The submergence tolerance regulator SUB1A mediates crosstalk between submergence and drought tolerance in rice. *Plant Cell* 23: 412-427.
- Gibbs DJ, Conde JV, Berckhan S, Prasad G, Mendiondo GM, Holdsworth MJ. 2015. Group VII Ethylene Response Factors Coordinate Oxygen and Nitric Oxide

- Signal Transduction and Stress Responses in Plants. *Plant Physiol* 169: 23-31.
16. Gibbs DJ, Md Isa N, Movahedi M, Lozano-Juste J, Mendiondo GM, Berckhan S, Marín-de la Rosa N, Vicente Conde J, Sousa Correia C, Pearce SP. 2014. Nitric oxide sensing in plants is mediated by proteolytic control of group VII ERF transcription factors. *Mol Cell* 53: 369-337.
 17. Giuntoli B, Licausi F, van Veen H, Perata P. 2017. Functional Balancing of the Hypoxia Regulators RAP2.12 and HRA1 Takes Place in vivo in *Arabidopsis thaliana* Plants. *Front Plant Sci* 8: 591.
 18. Gu YQ, Wildermuth MC, Chakravarthy S, Loh YT, Yang C, He X, Han Y, Martin GB. 2002. Tomato transcription factors *pti4*, *pti5*, and *pti6* activate defense responses when expressed in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: 817-831.
 19. Heyman J, Cools T, Vandenbussche F, Heyndrickx KS, Van Leene J, Vercauteren I, Vanderauwera S, Vandepele K, De Jaeger G, Van Der Straeten D, De Veylder L. 2013. ERF115 controls root quiescent center cell division and stem cell replenishment. *Science* 342: 860-863.
 20. Hiratsu K, Matsui K, Koyama T, Ohme-Takagi M. 2003. Dominant repression of target genes by chimeric repressors that include the EAR motif, a repression domain, in *Arabidopsis*. *Plant J* 34: 733-739.
 21. Jeon J, Cho C, Lee MR, Van Binh N, Kim J. 2016. CYTOKININ RESPONSE FACTOR2 (CRF2) and CRF3 Regulate Lateral Root Development in Response to Cold Stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 28: 1828-1843.
 22. Jofuku KD, Boer BGW, Montagu MV, Okamoto JK. 1994. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*. *Plant Cell* 6: 1211-1225.
 23. Kagale S, Rozwadowski K. 2011. EAR motif-mediated transcriptional repression in plants: an underlying mechanism for epigenetic regulation of gene expression. *Epigenetics* 6: 141-146.
 24. Kagaya Y, Ohmiya K, Hattori T. 1999. RAV1, a novel DNA-binding protein, binds to bipartite recognition sequence through two distinct DNA-binding domains uniquely found in higher plants. *Nucleic Acids Res* 27: 470-478.
 25. Kakimoto T. 2003. Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu Rev Plant Biol* 54: 605-627.
 26. Kang NY, Lee HW, Kim J. 2013. The AP2/EREBP gene PUCHI Co-Acts with LBD16/ASL18 and LBD18/ASL20 downstream of ARF7 and ARF19 to regulate lateral root development in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* 54: 1326-1334.
 27. Kannangara R, Branigan C, Liu Y, Penfield T, Rao V, Mouille G, Höfte H, Pauly M, Riechmann JL, Broun P. 2007. The transcription factor WIN1/SHN1 regulates Cutin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 19: 1278-1294.
 28. Kim MJ, Ruzicka D, Shin R, Schachtman DP. 2012. The *Arabidopsis* AP2/ERF transcription factor RAP2.11 modulates plant response to low-potassium conditions. *Mol Plant* 5: 1042-1057.
 29. Klucher KM, Chow H, Reiser L, Fischer RL. 1996. The *AINTEGUMENTA* gene of *Arabidopsis* required for ovule and female gametophyte development is related to the floral homeotic gene *APETALA2*. *Plant Cell* 8: 137-153.
 30. Kosmacz M, Parlanti S, Schwarzlander M, Kragler F, Licausi F, Van Dongen JT. 2015. The stability and nuclear localization of the transcription factor RAP2.12 are dynamically regulated by oxygen concentration. *Plant Cell Environ* 38: 1094-1103.
 31. Krishnaswamy S, Verma S, Rahman MH, Kav NN. 2011. Functional characterization of four *APETALA2*-family genes (*RAP2.6*, *RAP2.6L*, *DREB19* and *DREB26*) in *Arabidopsis*. *Plant Mol* 75: 107-127.
 32. Krizek B. 2009. *AINTEGUMENTA* and *AINTEGUMENTA-LIKE6* act redundantly to regulate *Arabidopsis* floral growth and patterning. *Plant Physiol* 150: 1916-1929.
 33. Licausi F, Kosmacz M, Weits DA, Giuntoli B, Giorgi FM, Voesenek LA, Perata P, van Dongen JT. 2011. Oxygen sensing in plants is mediated by an N-end rule pathway for protein destabilization. *Nature* 479: 419-422.
 34. Liu P, Sun F, Gao R, Dong H. 2012. *RAP2.6L* overexpression delays waterlogging induced premature senescence by increasing stomatal closure more than antioxidant enzyme activity. *Plant Mol Biol* 79: 609-622.
 35. Magnani E, Sjölander K, Hake S. 2004. From endonucleases to transcription factors: evolution of the AP2 DNA binding domain in plants. *Plant Cell* 16: 2265-2277.
 36. Maruyama K, Sakuma Y, Kasuga M, Ito Y, Seki M, Goda H, Shimada Y, Yoshida S, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2004. Identification of cold-inducible downstream genes of

- the Arabidopsis DREB1A/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems. *Plant J* 38: 982-993.
37. McGrath KC, Dombrecht B, Manners JM, Schenk PM, Edgar CI, Maclean DJ, Scheible WR, Udvardi MK, Kazan K. 2005. Repressor- and activator-type ethylene response factors functioning in jasmonate signaling and disease resistance identified via a genome-wide screen of Arabidopsis transcription factor gene expression. *Plant Physiol* 139: 949-959.
 38. Mehrnia M, Balazadeh S, Zanoor MI, Mueller-Roeber B. 2013. EBE, an AP2/ERF transcription factor highly expressed in proliferating cells, affects shoot architecture in Arabidopsis. *Plant Physiol* 162: 842-857.
 39. Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2012. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim Biophys Acta* 1819: 86-96.
 40. Mizukami Y, Fischer RL. 2000. Plant organ size control: AINTEGUMENTA regulates growth and cell numbers during organogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 942-947.
 41. Moffat CS, Ingle RA, Wathugala DL, Saunders NJ, Knight H, Knight MR. 2012. ERF5 and ERF6 play redundant roles as positive regulators of JA/Et-mediated defense against Botrytis cinerea in Arabidopsis. *PLoS One* 7: e35995.
 42. Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, Shinshi H. 2006. Genome-wide analysis of the ERF gene family in Arabidopsis and rice. *Plant Physiol* 140: 411-432.
 43. Oh E, Kang H, Yamaguchi S, Park J, Lee D, Kamiya Y, Choi G. 2009. Genome-wide analysis of genes targeted by PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 3-LIKE5 during seed germination in Arabidopsis. *Plant Cell* 21: 403-419.
 44. Ohta M, Matsui K, Hiratsu K, Shinshi H, Ohme-Takagi M. 2001. Repression domains of class II ERF transcriptional repressors share an essential motif for active repression. *Plant Cell* 13: 1959-1968.
 45. Oñate-Sánchez L, Anderson JP, Young J, Singh KB. 2007. AtERF14, a member of the ERF family of transcription factors, plays a nonredundant role in plant defense. *Plant Physiol* 143: 400-409.
 46. Oñate-Sánchez L, Singh KB. 2002. Identification of Arabidopsis ethylene-responsive element binding factors with distinct induction kinetics after pathogen infection. *Plant Physiol* 128: 1313-1322.
 47. Oshima Y, Shikata M, Koyama T, Ohtsubo N, Mitsuda N, Ohme-Takagi M. 2013. MIXTA-like transcription factors and WAX INDUCER1/SHINE1 coordinately regulate cuticle development in Arabidopsis and Torenia fournieri. *Plant Cell* 25: 1609-1624.
 48. Pandey GK, Grant JJ, Cheong YH, Kim BG, Li L, Luan S. 2005. ABR1, an APETALA2-domain transcription factor that functions as a repressor of ABA response in Arabidopsis. *Plant Physiol* 139: 1185-1193.
 49. Rashid M, Guangyuan H, Guangxiao Y, Hussain J, Xu Y. 2012. AP2/ERF Transcription Factor in Rice: Genome-Wide Canvas and Syntenic Relationships between Monocots and Eudicots. *Evol Bioinform Online* 8: 321-355.
 50. Rashotte AM, Mason MG, Hutchison CE, Ferreira FJ, Schaller GE, Kieber JJ. 2006. A subset of Arabidopsis AP2 transcription factors mediates cytokinin responses in concert with a two-component pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 11081-11085.
 51. Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet JG, Abe H, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2002. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* 290: 998-1009.
 52. Sakuma Y, Maruyama K, Osakabe Y, Qin F, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2006. Functional analysis of an Arabidopsis transcription factor, DREB2A, involved in drought-responsive gene expression. *Plant Cell* 18: 1292-1309.
 53. Sasaki K, Mitsuhara I, Seo S, Ito H, Matsui H, Ohashi Y. 2007. Two novel AP2/ERF domain proteins interact with cis-element VWRE for wound-induced expression of the Tobacco tpoxN1 gene. *Plant J* 50: 1079-1092.
 54. Sewelam N, Kazan K, Thomas-Hall SR, Kidd BN, Manners JM, Schenk PM. 2013. Ethylene response factor 6 is a regulator of reactive oxygen species signaling in Arabidopsis. *PLoS One* 8: e70289.
 55. Shaikhali J, Heiber I, Seidel T, Stroher E, Hiltcher H, Birkmann S, Dietz KJ, Baier M. 2008. The redox-sensitive transcription factor Rap2.4a controls nuclear expression of 2-Cys peroxiredoxin A and other chloroplast antioxidant enzymes. *BMC Plant Biol* 8: 48.
 56. Sharma MK, Kumar R, Solanke AU, Sharma R, Tyagi AK, Sharma AK. 2010. Identification, phylogeny, and

- transcript profiling of ERF family genes during development and abiotic stress treatments in tomato. *Mol Genet Genomics* 284: 455-475.
57. Shigyo M, Ito M. 2004. Analysis of gymnosperm two-AP2-domain-containing genes. *Dev Genes Evol* 214: 105-114.
 58. Šimášková M, O'Brien JA, Khan M, Van Noorden G, Ötvös K, Vieten A, De Clercq I, Van Haperen JM, Cuesta C, Hoyerová K, Vanneste S, Marhavý P, Wabnik K, Van Breusegem F, Nowack M, Murphy A, Friml J, Weijers D, Beeckman T, Benková E. 2015. Cytokinin response factors regulate PIN-FORMED auxin transporters. *Nat Commun* 6: 8717.
 59. Son GH, Wan J, Kim HJ, Nguyen XC, Chung WS, Hong JC, Stacey G. 2012. Ethylene-responsive element-binding factor 5, ERF5, is involved in chitin-induced innate immunity response. *Mol Plant Microbe Interact* 25: 48-60.
 60. Song CP, Agarwal M, Ohta M, Guo Y, Halfter U, Wang P, Zhu JK. 2005. Role of an Arabidopsis AP2/EREBP-type transcriptional repressor in abscisic acid and drought stress responses. *Plant Cell* 17: 2384-2396.
 61. Sun S, Yu JP, Chen F, Zhao TJ, Fang XH, Li YQ, Sui SF. 2008. TINY, a dehydration-responsive element (DRE)-binding protein-like transcription factor connecting the DRE- and ethylene-responsive element-mediated signaling pathways in Arabidopsis. *J Biol Chem* 283: 6261-6271.
 62. Swaminathan K, Peterson K, Jack T. 2008. The plant B3 superfamily. *Trends Plant Sci* 13: 647-655.
 63. Vogel MO, Moore M, König K, Pecher P, Alsharafa K, Lee J, Dietz KJ. 2014. Fast retrograde signaling in response to high light involves metabolite export, MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE6, and AP2/ERF transcription factors in Arabidopsis. *Plant Cell* 26: 1151-1165.
 64. Wang X, Liu S, Tian H, Wang S, Chen JG. 2015. The Small Ethylene Response Factor ERF96 is Involved in the Regulation of the Abscisic Acid Response in Arabidopsis. *Front Plant Sci* 6: 1064.
 65. Ward JM, Smith AM, Shah PK, Galanti SE, Yi H, Demianski AJ, van der Graaff E, Keller B, Neff MM. 2006. A new role for the Arabidopsis AP2 transcription factor, LEAFY PETIOLE, in gibberellin-induced germination is revealed by the misexpression of a homologous gene, SOB2/DRN-LIKE. *Plant Cell* 18: 29-39.
 66. Weits DA, Giuntoli B, Kosmacz M, Parlanti S, Hubberten HM, Riegler H, Hoefgen R, Perata P, van Dongen JT, Licausi F. 2014. Plant cysteine oxidases control the oxygen-dependent branch of the N-end-rule pathway. *Nat Commun* 5: 3425.
 67. Wessler SR. 2005. Homing into the origin of the AP2 DNA binding domain. *Trends Plant Sci* 10: 54-56.
 68. Wu LJ, Zhang ZJ, Zhang HW, Wang XC, Huang RF. 2008. Transcriptional modulation of ethylene response factor protein JERF3 in the oxidative stress response enhances tolerance of tobacco seedlings to salt, drought, and freezing. *Plant Physiol* 148: 1953-1963.
 69. Yang Z, Tian L, Latoszek-Green M, Brown D, Wu K. 2005. Arabidopsis ERF4 is a transcriptional repressor capable of modulating ethylene and abscisic acid responses. *Plant Mol Biol* 58: 585-596.
 70. Zhang L, Li Z, Quan R, Li G, Wang R, Huang R. 2011. An AP2 domain-containing gene, ESE1, targeted by the ethylene signaling component EIN3 is important for the salt response in Arabidopsis. *Plant Physiol* 157: 854-865.
 71. Zhang Z, Wang J, Zhang R, Huang R. 2012. The ethylene response factor AtERF98 enhances tolerance to salt through the transcriptional activation of ascorbic acid synthesis in Arabidopsis. *Plant J* 71: 273-287.
 72. Zhu L, Liu D, Li Y, Li N. 2013. Functional Phosphoproteomic Analysis Reveals That a Serine-62-Phosphorylated Isoform of Ethylene Response Factor110 Is Involved in Arabidopsis Bolting. *Plant Physiol* 161: 904-917.
 73. Zhuang J, Cai B, Peng RH, Zhu B, Jin XF, Xue Y, Gao F, Fu XY, Tian YS, Zhao W. 2008. Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Populus trichocarpa*. *Biochem Biophys Res Commun* 371: 468-474.