

## REVIEW

# 생체시계 유전자에 의한 식물의 온도 스트레스 반응 조절

장주나<sup>1,2</sup> · 김정일<sup>2</sup> · 김진아<sup>1,\*</sup>

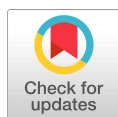
<sup>1</sup>국립농업과학원 생물소재공학과, <sup>2</sup>전남대학교 융합식품바이오공학과

## Regulation of Temperature Stress Responses in Plants through Circadian Clock Genes

Juna Jang<sup>1,2</sup>, Jeong-Il Kim<sup>2</sup>, and Jin A Kim<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Agricultural Biotechnology, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Jeonju, Korea

<sup>2</sup>Department of Integrative Food, Bioscience and Biotechnology, Chonnam National University, Gwangju, Korea



Received: August 14, 2023

Accepted: September 5, 2023

\*Corresponding author :

Jin A Kim

Department of Agricultural  
Biotechnology, National Academy of  
Agricultural Science, Rural Development  
Administration, Jeonju, Korea  
Tel : +82-63-238-4619  
E-mail : jakim72@korea.kr

Copyright © 2023 Institute of Agricultural Science  
& Technology, Chonnam National University.

This is an Open Access article distributed  
under the terms of the Creative Commons  
Attribution Non-Commercial License  
(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)  
which permits unrestricted non-commercial  
use, distribution, and reproduction in any  
medium, provided the original work is  
properly cited.

### ORCID

Juna Jang

<https://orcid.org/0009-0005-9320-7688>

Jeong-Il Kim

<https://orcid.org/0000-0003-4177-4048>

Jin A Kim

<https://orcid.org/0000-0002-2008-426X>

### Abstract

Plant growth and development are widely affected by ambient temperature conditions. Extreme temperatures cause widespread crop losses worldwide and severely limit the amount of land available for agricultural purposes. Thus, it is urgent to develop crops that are resistant to temperature stress along with other abiotic stresses. Plants memorize changes of temperature signals during a day along with day-length, creating circadian rhythms, which can timely control physiological, and metabolic processes. However, at the same time, they are insensitive to temperature changes and preserve circadian rhythms to maintain growth and survival(temperature compensation). As recent studies have reported that circadian clock genes control plant responses to temperature, attempts to acquire resistance to temperature stresses using circadian clock genes in crops are getting more attention. For example, The *DEHYDRATION-RESPONSE ELEMENT-BINDING PROTEIN 1/C-REPEAT BINDING FACTOR (DREB1/CBFs)* transcription factors are known as the master regulators in the transcriptional regulatory network for the acquisition of cold stress tolerance. In addition, plants adapt to high temperature stress through thermomorphogenesis, in which *PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4 (PIF4)* transcriptional factor is involved. Even during the day, the expression of *DREB1* and *PIF4* varies over time, and plant responses to low and high temperatures show a diurnal cycle. Recent studies suggested that, the central oscillator genes *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1/LATE ELONGATED HYPOCOTYL (CCA1/LHY)* and *PSEUDO-RESPONSE REGULATOR5/7/9 (PRR5/7/9)* and the *EVENING COMPLEX (EC)* genes *REVEILLE4/REVEILLE8 (REV4/REV8)* were involved in the *DREB1* pathway of the cold signaling transcription factor, and the regulation of the thermomorphogenesis *PIF4* gene. Another central oscillator, *TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1)*, and the regulatory protein ZEITLUPE (ZTL) were also revealed to be involved. In this review, we would like to introduce clock the circadian rhythm regulation and clock genes that are related to response to the temperature changes in plants, which will be used to establish strategies for plants to survive in the rapidly changing global climate.

### Keywords

circadian genes, temperature responses, temperature compensation

## 서론

24시간을 주기로 자전하는 지구상의 모든 유기체는 하루 중 시간에 따라 변화하는 환경 신호에 맞춰 유기체 내부의 생물학적 과정을 조정하는 일주기 시계를 갖게 되었다[1]. 일주기 시계는 유기체

의 생리작용과 발달 과정의 생물학적 리듬을 생성하는 분자 타이밍 장치이다[2]. 일일주기 리듬을 조절하는 생체시계(circadian clock) 유전자는 식물 생명의 주된 조절자 역할을 하며, 환경 적응 반응을 촉진하는 다양한 신호 및 대사 경로와 연결되어 있다. 환경과 식물 내생리듬의 올바른 일치는 적응력 향상에 기여하여 생존과 최적의 성장과 발달을 보장한다. 일주기 리듬(circadian rhythm)은 내생적으로 생성되고 자체적으로 유지되며, 다양한 생리적 온도에서 견고하고 정확한 타이밍을 유지할 수 있다[3,4].

온도는 작물의 품질과 생산성뿐만 아니라, 식물의 성장과 발달 및 지리적 분포에 영향을 미친다. 온도에 의존하는 식물 반응에는 열주기(thermoperiodism), 열형태형성(thermomorphogenesis), 저온성층화(cold stratification), 극한 온도 반응(extreme-temperature responses) 등이 포함된다. 하루를 주기로 변화하는 온도는 식물체에 시간 정보를 제공하여 리듬을 만드는 신호로 작용(entrainment)하는 것으로 알려져 있지만, 시계 주기는 생리학적으로 관련된 온도 범위에서 크게 변하지 않고 일정하게 유지될 수 있는 기능을 가지며, 이를 온도보상(temperature compensation)이라고 한다[5]. 온도보상뿐만 아니라 극단적인 온도 변화 또는 식물의 성장과 발달에 영향을 주는 스트레스 온도 조건에서도 생체리듬을 안정화시키는 기작들이 연구되고 있다. 저온 조건에서 *CCA1* (*CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1*) 유전자의 대체스플라이싱(alternative splicing)이 일어난다거나, E3 ubiquitin ligase인 *ZTL* (*ZEITLUPE*)와 *HSP90* (*HEAT SHOCK PROTEIN 90*)이 고온 조건에서 식물 생체시계를 안정화시키는 독특한 메커니즘을 가진다는 보고가 그 대표적인 예이다[6]. 세포 대사의 변화에 대응하여 리듬을 조절하는 분자 메커니즘은 다양한 식물 종에서 탐구되고 있으며, 시계 주기의 안정화는 식물의 정상적인 성장과 발달을 유지하고, 불리한 환경 조건에서의 생존을 가능하게 한다.

식물이 견딜 수 있는 적절한 범위의 온도 변화나 스트레스가 되는 극단적 온도 변화에 대한 식물의 적응 메커니즘에 대한 연구는 식물이 주변 환경 변화에 적응하여 생산성을 유지할 수 있는 중요한 기초적인 자료를 제공할 수 있으며, 특히 지구 온난화에 의해 작물의 재배지가 위협을 받는 현 시점에서 미래 식량 유지를 위한 육종 소재를 제공할 수 있다. 본 리뷰에서는 온도 변화에 대한 반응 기작과 스트레스 온도에 적응하는데에 관여하는 생체리듬 조절 유전자들과 기작을 소개하고자 한다.

## 본 론

### 1. 식물 생체시계

#### 1) 일주기 피드백 루프

식물 시계 시스템은 여러 개의 억제 피드백 루프를 포함하는 복잡한 유전자 회로로 알려져 있다[7]. 생체리듬을 조절하는 전사 조절 네트워크 모델 시스템은 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)에서 많이 연구되었다. 중앙진동자(main oscillator)의 피드백 루프는 *CCA1*, *LHY* (*LATE ELONGATED HYPOCOTYL*), *TOC1* (*TIMING OF CAB EXPRESSION 1*) [*PRR1* (*PSEUDO-RESPONSE REGULATOR*)]이라고도 함 및 MYB 전사인자인 *LUX* (*LUX ARRHYTHMO*), 그리고 추가적인 전사조절인자 *ELF3* (*EARLY FLOWERING 3*) 및 *ELF4*를 포함하는 *EC* (*EVENING COMPLEX*)로 구성된다. 이 중앙진동자 피드백 루프의 *CCA1* 및 *LHY* 발현은 아침에 최고조에 달하면서 *TOC1* 유전자의 전사를 억제하는 반면, *TOC1* 발현은 저녁 시간에 최고조에 달하고, *CCA1* 및 *LHY* 유전자의 전사를 억제한다. 또한, *CCA1*와 *LHY*는 *PRR7* 및 *PRR9* 유전자를 활성화하고, 이 유전자는 시간 순서에 따라 차례로 *CCA1* 유전자 전사를 억제한다. 한편, *TOC1*은 *EC* 구성요소, *PRRs* 및 *GI* (*GIGANTEA*) 유전자의 전사를 억제한다. 중앙진동자의 다른 주요 구성 요소에는 *GI*, *ZTL* 및 *PRR3*

이 포함된다. *LHY*와 *CCA1*은 이른 아침에 *GI* 전사를 억제하는 반면, *GI* 전사는 한낮에 정점에 도달한다[8,9].

청색광 수용체이면서 *TOC1* 분해를 매개하는 E3 ubiquitin ligase로서 중요한 일주기 조절 시스템 단백질인 ZTL의 발현은 황혼에 최고조에 이르며, *GI*는 LOV(light, oxygen, voltage) 도메인을 통해 ZTL과 상호 작용한다[10]. 이 단백질-단백질 상호 작용은 청색광에서 ZTL 단백질을 안정화시켜 ZTL의 축적을 유도하고, *GI*가 HSP90의 샤페론 활동과 함께 낮 동안 ZTL의 성숙을 강화한다는 것이 증명되었다[11]. 일주기 리듬을 조절하는 시계 유전자들의 돌연변이는 중앙진동자의 기능에 영향을 미쳐 일주기 리듬의 주기와 진폭을 변화시킬 뿐 아니라 다양한 환경 스트레스 조건에 대한 식물의 반응과 적응 능력을 변경한다. *prf5/7/9* 삼중 돌연변이는 고염도와 가뭄 스트레스에 더 잘 견딘다[12]. *GI* 과발현 식물은 향상된 염분 민감성을 보이는 반면, *gi* 돌연변이체는 가뭄 스트레스 및 산화 스트레스 하에서 향상된 염분 내성 및 향상된 생존을 보인다[13,14]. *TOC1*-RNAi 식물에서 *TOC1*의 발현 감소는 가뭄 내성을 개선하는 반면, *TOC1*의 과발현은 가뭄 조건에서 수분 손실을 증가시키고 생존율을 감소시킨다[15]. *prf5/7/9* 및 *toc1* 돌연변이체는 상당히 증가된 동결 내성을 나타내지만[12,16], *gi*, *lux*, *lhy*, *cca1* 및 *lhy×cca1* 돌연변이체는 동결 내성을 감소시켰다[17,18]. 이러한 발견은 일주기 시계가 환경 스트레스를 견디는 식물의 능력에 기여한다는 것을 보여준다.

## 2) 온도와 일주기시계

주위 환경의 변화에 맞춰 정확한 타이밍에 생체시스템을 가동하고 유지하는 것은 식물의 생존과 최적의 성장에 필수적이다. 일주기 시계는 식물이 일주기 리듬을 유지할 수 있도록 하는 분자 완충 시스템을 가지고 있어 시계 출력 경로가 온도 변동의 생리적 범위에 크게 둔감하도록 만드는 것으로 알려져 있다. 이 현상을 온도 보상이라고 한다[5]. 온도 보상 메커니즘은 다양한 식물종에서 잘 보존되어 있으며, 일주기 시계 시스템의 중요한 속성이다. 시계 유전자는 아니지만, 부분적으로 열 감지기의 역할을 수행하는 *phyB*(PHYTOCHROME B)가 시계에 온도 정보를 전달할 수 있으며[19,20], *PRR7* 및 *PRR9*가 결여된 애기장대 식물이 온난-냉간 주기에 반응하여 일주기 리듬을 유지할 수 없음이 보고되었으며, PRR 단백질도 시계의 온도 반응에 있어 중요한 역할을 하는 것이 증명되었다[21]. 이외에도 FBH1(FLOWERING BASIC HELIX-LOOP-HELIX 1)과 HSF(HEAT SHOCK TRANSCRIPTION FACTOR) 단백질 그룹도 고온에 대한 식물 생체시스템의 반응에 중요한 역할을 한다[22]. 한편, FBH1의 과잉 생산은 온도 변화에 대한 *CCA1* 반응을 조절함으로써 시계의 속도를 변경하는 것으로 밝혀졌다. 열 반응성 *HsfB2b* 전사인자는 온도가 상승하면, *PRR7* 전사를 억제하고, *HsfB2b* 발현이 억제되면 동일한 온도 조건에서 일주기가 짧아진다[23]. 이러한 결과들은 생체시계 유전자가 온도 신호를 전달하는 기능을 가질 가능성을 시사하며, 다른 비생물학적 스트레스와 같이 온도 스트레스에 대한 저항성에 영향을 줄 수 있음을 제시하였다.

## 2. 저온 스트레스 하에서의 생체시계 유전자 반응

### 1) 식물의 저온 스트레스 반응 및 조절

애기장대에서 *DREB1/CBF3*(DEHYDRATION-RESPONSE ELEMENT-BINDING PROTEIN 1/C-REPEAT BINDING FACTOR)는 저온 반응성 유전자 발현에 관여하는 주요 전사인자로 확인되었다[24,25]. 이러한 *DREB1/CBF3*는 AP2/ERF(*APETALA2/ETHYLENE-RESPONSIVE FACTOR*) 전사인자로, *DRE*(DEHYDRATION-RESPONSE ELEMENT)에 결합하고 저온 유도 유전자 발현에서 마스터 조절 인자 역할을 한다. 애기장대에는 *DREB1A/CBF3*, *DREB1B/CBF1* 및 *DREB1C/CBF2*의 세 가지 *DREB1/CBF* 유전자가 있다. 이 유전자들은 애기장대 계통에서

*DREB1B*, *DREB1A* 및 *DREB1C* 순서로 나란히 배열되어 있는데, 3개의 유전자 모두가 파괴된 애기장대 돌연변이 식물은 심하게 손상된 동결 내성을 보인다. 세 가지 유전자 모두 저온 스트레스에 의해 빠르게 유도되며, *DREB1* 유전자의 유도는 저온 반응성 전사 캐스케이드를 촉발하고, 이어서 다수의 저온 유도성 유전자의 발현을 유발한다. 따라서 저온 스트레스에 대한 *DREB1* 발현 메커니즘에 대한 연구는 식물의 저온 스트레스에 대한 인식과 반응을 이해하는데 중요하다. *DREB1* 유전자 자체는 저온 스트레스에 의해 빠르게 유도된다.

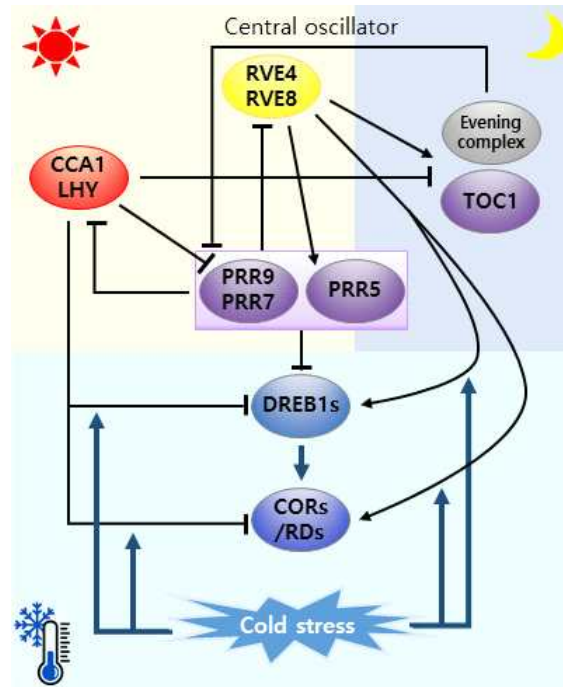
## 2) 시계 관련 전사 인자를 포함하는 저온 신호 전달 경로

*DREB1A*를 포함한 많은 저온 유발 유전자의 발현은 정상 온도에서는 정오쯤에 발현하지만 발현 수준이 매우 낮다[26,27]. 24시간 주기 시계의 중앙 진동자의 핵심 구성 요소인 *PRR9*, *PRR7* 및 *PRR5*를 암호화하는 유전자의 돌연변이는 *DREB1* 유전자 및 그 하위 유전자의 발현을 향상시킨다[12,28]. 또한, *DREB1* 유전자의 저온 유도 발현은 *CCA1*과 *LHY*의 이중돌연변이 식물에서 유의하게 감소되었다. 이러한 결과는 *DREB1A*를 포함한 많은 저온 유발 유전자들이 시계 유전자에 의해 조절되며, 따라서 식물의 저온에 대한 반응에도 영향을 미칠 가능성이 있다.

*CCA1*과 *LHY*에 더하여 *DREB1* 조절인자로 RVE4/LCL1(REVEILLE4/LHY-CCA1-LIKE1)과 RVE8/LCL5가 있으며, 이들은 *DREB1* 프로모터 영역 중 EE(EVENING ELEMENT)에 결합하여 발현을 조절하는 단백질이다(Fig. 1). 일주기 시계에서 프로모터에 EE가 직접적으로 결합하여 *CCA1* 및 *LHY*에 의해 억제되는 저녁 유전자의 발현을 활성화시킨다[29-31]. 저온 조건에서 RVE4 및 RVE8은 *DREB1* 프로모터에 직접 결합하여 전사활성화인자로 기능한다. RVE6는 RVE3 및 RVE5와 함께 중복적이지만 조건부로 RVE4 및 RVE8의 활동이 손실된 경우에만 *DREB1* 발현을 활성화한다. 또한 RVE4 및 RVE8 단백질은 저온 스트레스에 반응하여 세포질에서 핵으로 신속하고 가역적으로 전달되어 *DREB1* 유전자의 발현을 활성화한다. 스트레스가 없는 정상 조건에서 *CCA1* 및 *LHY* 단백질은 *DREB1* 프로모터에 결합하여 *DREB1* 발현의 전사 억제자 역할을 하고, 특히 저온 스트레스 조건에서 빠르게 분해되어 *DREB1* 발현을 유도한다. 그러나 *CCA1* 및 *LHY* 단백질이 모두 분해되는 것은 아니며, 저온 스트레스 조건에서 낮은 수준으로 존재하면서 RVE1과 RVE2와 결합하여 저온 유도 유전자 *DREB1* 발현을 억제한다[32]. *CCA1*과 *LHY*는 저온 스트레스 조건에서 RVE4/RVE8과 결합하여 *DREB1*의 발현을 간접적으로 증가시키면서 *COR/RD*(COLD-REGULATED/RESPONSIVE TO DEHYDRATION) 유전자의 발현을 직접 조절한다(Fig. 1). 이러한 결과들은 시계 관련 전사인자들이 저온 유발 유전자의 발현을 유도하는 중요한 역할을 하며 이들의 작용 메커니즘에 대한 연구는 식물 생체 시계와 저온 스트레스 반응 사이의 복잡한 관계를 밝힐 뿐만 아니라 저온 스트레스에 견딜 수 있는 저항성 작물을 개발할 수 있는 육종 소재를 제공할 것이다.

## 3) 온도 감소 감지에 관여하는 생체시계 유전자

DNA 결합 단백질 LUX와 ELF3 및 ELF4 단백질로 구성된 EC는 식물 생체시계의 핵심 구성 요소인 전사 억제 복합체이다. EC는 정상 온도에서 온도 의존적 식물 성장을 조절한다. EC는 4°C에서 더 강한 DNA 결합을 보여주고, 27°C에서 더 약한 결합을 보여줌으로써 온도 센서로 작용할 수 있으며, 이는 ELF4에 의해 조절된다[33]. 또한 ELF4는 새싹에서 뿌리로 옮길 수 있으며, 저온은 이러한 움직임을 향상시킨다. ELF3는 발판 단백질이며, 온도 감지 기계의 핵심 구성 요소이다[34]. ELF3의 prion 유사 도메인 내에 포함된 폴리글루타민 반복은 온도 센서로 기능하기 위해 필요하다[35]. 그러나 12°C 미만의 ELF3에 의한 저온 감지는 아직 입증되지 않았다. 또한 RVE4 및 RVE8의 핵 축적과 *CCA1* 및 *LHY*의 분해와 같은 시계 관련 MYB의 번역 후 조절은 저온 스트레스에 대한 반응으로 발생한다[36]. 일주기 구성 요소의 저온 반응 조절의 상세한 메커니즘 분석은 온도 감지 시스템의



**Fig. 1.** A schematic model for the expression of DREB1 genes under normal and cold stress conditions. Relationship between the circadian oscillator and the regulatory expression of *DEHYDRATION-RESPONSE ELEMENT-BINDING PROTEIN 1* (DREB1) is shown. In the morning, *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1* (CCA1) and *LATE ELONGATED HYPOCOTYL* (LHY) repress the expression of evening- or night-expressed genes. In the daytime, *PSEUDO-RESPONSE REGULATOR9* (PRR9), *PRR7*, and *PRR5* function as transcriptional repressors for the morning-expressed genes. *REVEILLE* (RVEs) activate the expression of the evening-expressed genes encoding *TIMING OF CAB EXPRESSION 1* (TOC1) and components of the *EVENING COMPLEX* (EC). TOC1 and EC repress the expression of PRR genes at night. CCA1, LHY, and PRRs function as repressors of DREB1 expression under unstressed/normal conditions. RVE4 and RVE8 activate DREB1 expression under the cold stress condition. CCA1/LHY and RVE4/RVE8 also directly regulate the expression of *COLD-REGULATED/RESPONSIVE TO DEHYDRATION* (COR/RD) genes. Modified from Kidokoro et al. [55] with CC-BY.

해명으로 이어질 수 있다.

### 3. 고온 스트레스 반응과 연관된 생체시계 유전자

#### 1) 식물의 고온 스트레스 반응 및 열형태 형성

자연에서 식물은 다양한 온도 체계 내에서 급격한 온도 변화에 자주 직면하며, 온도 자극에 적응하기 위한 방어 메커니즘을 갖추고 있다. 생육 적온이 22℃인 애기장대의 경우, 실제로는 16℃-28℃까지는 정상적인 생육이 가능하지만, 16℃ 이하나 29℃ 이상의 온도는 스트레스로 인지하여 생장이 심각하게 감소되고, 식물 구조와 형태가 왜곡되어 종자 생산이 감소한다[37]. 애기장대가 생장 기간 동안 고온에 노출되게 되면, 배축 신장, 잎자루 확장, 하배엽 증가 및 작고 얇은 잎을 형성하는데, 이러한 특징을 열형태형성이라 하며, 식물이 뜨거운 토양 표면으로부터 정단분열 조직을 멀리 떨어지게 하고, 잎의 증발 냉각을 촉진하는 데 도움이 된다[38]. 이렇게 스트레스가 없는 주변 온도 적응

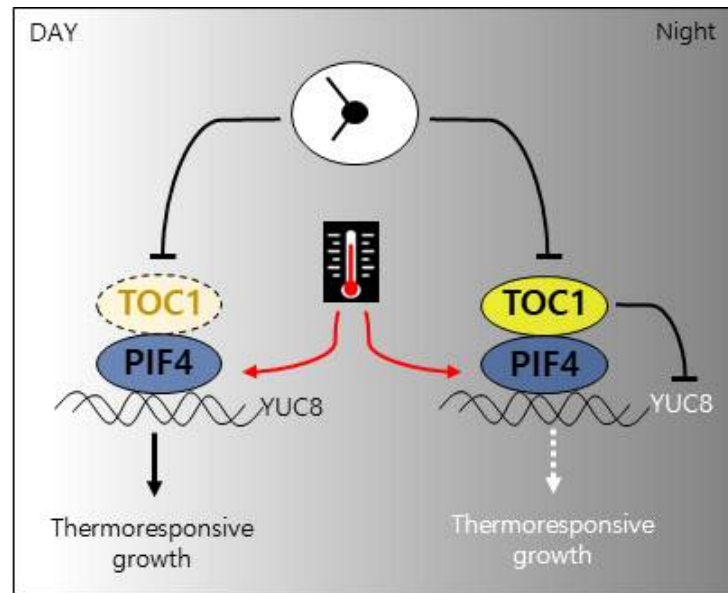
전략을 통해 식물은 변동하는 온도 조건에서도 최적의 수준으로 생물학적 활동을 유지할 수 있다[39]. 최근의 연구에서는 고온 스트레스에 대한 식물 반응에도 일주기 시계 유전자가 연관되어 있음이 증명되었다[40,41]. 비록 저온 스트레스 반응과 생체시계와의 관계가 많이 밝혀진 것에 비해 분자 수준에서 고온과의 관계 메커니즘이 잘 밝혀지지지는 못했지만, 열스트레스 적응에 관여하는 식물 시계 유전자들에 대한 연구는 현재까지도 진행되고 있다[42-45].

## 2) 열형태형성에 관여하는 생체시계 유전자

TOC1 및 PRR5, 두 저녁 발현 시계 단백질은 저녁에 고온 반응을 억제하는 역할을 한다고 알려져 있다[42]. TOC1과 PRR5 모두 고온 반응성 하배축 신장을 촉진하는 *bHLH*(BASIC HELIX-LOOP-HELIX) 전사인자 중 하나인 *PIF4*(PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4)와 직접 상호작용하여 전사 활성을 억제함으로써 *PIF4* 매개 성장 촉진을 억제한다[42,46]. 이 기작에서 26S 프로테오솜 매개 분해를 위해 *TOC1* 및 *PRR5*를 표적으로 하는 F-box 단백질인 ZTL이 관여한다[10,47,48]. *ztl* 돌연변이 실험을 통하여 *PIF4* 및 그 표적 유전자 *YUC8*(*YUCCA8*)의 발현을 강화하여 고온 반응 하배축 신장에 기여한다는 것이 밝혀졌다[49,50]. *ztl* 돌연변이에서 *PIF4* 발현은 고온에 의해 증가했지만 *PIF4*의 기본 수준은 야생형 애기장대 식물의 수준보다 낮았는데, 이러한 결과는 ZTL이 *PIF4* 전사뿐만 아니라, *PIF4* 활성화에도 영향을 미친다는 것을 설명한다. 애기장대 *ztl* 돌연변이 실험에서 야생형 식물의 하배축 신장은 고온(28°C)에 의해 4배 이상 촉진되었으나, *ztl* 돌연변이의 하배축 신장은 고온에 의해 2배 증가하였고, ZTL 과발현 식물은 고온 조건에서 야생형보다 더 길어졌다. 이러한 결과는 ZTL이 열형태형성에 관여하여 고온에서 하배축을 신장시키는 역할을 한다는 것을 말해준다. ZTL은 *TOC1* 및 *PRR5*를 분해하는 E3 리가제로, *TOC1* 및 *PRR5*의 발현 수준을 낮추고 *PIF4*를 증가시켜 열형태형성을 촉진한다. 따라서 *TOC1*과 *PRR5* 발현 수준이 증가하는 저녁 시간에는 *PIF4* 매개 온도 반응 성장을 억제한다. 또한 *PIF4*는 EC에 의해 발현이 억제되며, 고온 반응 하배축 신장 특성을 보인다[51,52]. EC의 핵심 구성 요소인 *ELF3*의 발현은 야생형보다 *ztl* 돌연변이에서 더 높았는데, 이는 ZTL 유전자가 *ELF3* 단백질 발현량을 조절하는 것으로 보인다. *ztl* 돌연변이에서 고온에 대한 *PIF4* 및 그 표적 유전자의 발현은 *TOC1OX* 및 *PRR5OX* 식물과 유사했고[42], *ztl* 돌연변이의 유전자 발현 및 하배축 신장에서의 온도 조절 결함은 오히려 *ztl:toc1;prp5* 삼중 돌연변이에서 크게 회복되었다. 결과적으로 ZTL은 *TOC1* 및 *PRR5*, 그리고 EC 등을 통해 *PIF4* 발현을 긍정적으로 조절하여 고온 반응성 하배축 신장을 향상시킨다(Fig. 2). 또한 *PRR5*는 고온 매개 하배축 신장을 억제하는 것으로 알려져 있다. PRR5 단백질은 야생형 및 *ztl* 돌연변이 모두에서 고온에 의해 유사하게 증가하기 때문에 ZTL-PRR5 모듈은 *PIF4*의 최대 활성화에 영향을 미침으로써 고온에 대한 하배축 신장의 민감도를 결정한다[42,45].

## 3) 내열성에 관여하는 생체시계 유전자

ZTL은 열형태형성을 조절하는 것 외에도 단백질 발현 시스템을 통해 내열성을 증가시킨다[6]. 고온에서 ZTL 발현의 증가는 고온 스트레스 하에서 식물의 생존을 촉진할 수 있다. 열형태형성과 달리 *ztl* 돌연변이의 내열성 결함은 *TOC1* 및 *PRR5* 돌연변이에 의해 복원되지 않기 때문에 ZTL은 별개의 메커니즘을 통해 두 가지 고온 반응을 조절하는 것으로 보인다[53]. 또한 HSP90 클라이언트 단백질인 ZTL은 폴리우비퀴틴화 매개 단백질 분해를 통해 고온 유도 단백질 응집을 해소하여 내열성을 개선한다[6]. HSP90은 옥신 수용체 *TIR1*(TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1)을 안정화시켜 열형태형성을 긍정적으로 제어하는 것으로 밝혀졌다[54]. HSP90은 GA와 관련이 있고, 밤에 *TOC1*과 *PRR5*의 분해에 필요한 ZTL의 성숙을 조절한다. 종합하면, HSP90은 ZTL-TOC1/PRR5 신호 모듈과 *TIR1* 옥신 수용체를 통해 열형태형성을 조절한다.



**Fig. 2.** A model for the circadian gating of thermomorphogenesis through the TOC1-PIF4 interaction. During the day, warm temperature activates *PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4 (PIF4)*, which in turn activates auxin biosynthesis genes including *YUCCA8 (YUC8)*, promoting hypocotyl growth. However, in the evening and at early night, *TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1)* accumulates at high levels and directly inhibits *PIF4*, suppressing thermomorphogenesis. Modified from Zhu et al. [42] with permission of CC-BY.

정상 온도 범위에서 온도 변화를 수용하여 식물이 항상성을 유지하게 하거나, 극단적인 저온과 고온에서 식물의 생존과 생장 유지를 위해 세포 내 단백질의 성질을 변화시키고, 형태형성의 변화를 유도하는데 있어 생체시계 유전자는 중요한 역할을 하며, 특히 중앙진동자에 연관된 시계 유전자인 *TOC1*이 관여한다는 연구 결과는 매우 흥미롭다. 나아가 식물의 전체 생체리듬을 유지하는 유전자들이 저온과 고온 스트레스에 대한 식물의 반응 메커니즘에 관여한다는 연구 결과는 지구 온난화에 대비하여 온도 스트레스 내성이 향상된 작물을 육성하는데 있어 중요한 육종 소재가 될 수 있으며, 미래 식물 자원 확보와 식량 안정성을 위해 기여할 수 있다.

## 요 약

식물의 생장과 발달은 주변 온도 조건에 의해 광범위하게 영향을 받는다. 극한의 기온은 전 세계적으로 광범위한 농작물 손실을 초래하고, 농업 목적으로 사용할 수 있는 토지의 양에 심각한 제한을 가한다. 따라서 다른 비생물학적 스트레스와 함께 온도 스트레스에 대한 내성을 가진 작물의 개발이 시급하다. 식물은 일장과 함께 하루 중에 변화하는 온도 신호를 기억하여 생체리듬을 만들고, 이는 생리적 과정 및 대사 과정을 시기적절하게 조절하게 한다. 하지만, 동시에 온도 변화에 둔감하게 적응하면서 생체리듬을 보존하여 생육과 생존을 유지할 수 있다(온도보상). 식물 생체시계 유전자가 식물의 온도에 대한 반응을 조절한다는 최근 연구 결과가 보고되면서 생체시계 유전자를 통하여 작물의 온도 스트레스에 대한 내성을 획득하려는 시도가 더 많은 관심을 끌고 있다. 예를 들면, *DREB1/CBF* 전사인자는 저온 스트레스 내성 획득을 위한 전사 조절 네트워크에서 마스터 조절 인자로 알려져 있다. 또한 식물은 열형태형성을 통해 고온 스트레스에 적응하면, 이때 *PIF4* 전사인자가 관여한다. 하루 동안에도 *DREB1* 및 *PIF4* 발현은 시간에 따라 변화하며, 저온과 고온에 대한 식물의 반응도

일일주기를 보인다. 최근 연구는, 저온 신호전달 전사인자들로 구성된 DREB1 경로에 중앙진동자 유전자인 *CCA1/LHY*와 *PRR5/7/9* 그리고 저녁인자(*EC*)로 알려진 *REV4/REV8* 등이 관여하며, 열형태형성 조절에도 또다른 중앙진동자인 *TOC1*과 조절 단백질 *ZTL*이 관여하는 것을 제시하였다. 본 리뷰에서는 식물의 온도 변화 반응과 연관된 시계 유전자들을 소개하고자 하며, 이는 급변하는 지구의 기후에 식물이 살아남을 수 있는 전략을 세우는데 이용될 수 있을 것이다.

## Conflict of Interest

The authors declare no potential conflict of interest.

## 감사의 글

본 논문은 융합식품바이오공학개론 강의를 통해 작성되었으며, 논문은 농촌진흥청 고부가 식의 약소재 생산을 위한 합성생물학 기반기술 연구(농업과학기술기반기술연구, 과제번호: PJ01720904) 및 유전자교정 작물 개발 증진을 위한 형질전환 거점 구축(차세대농작물신육종기술개발, 과제번호: PJ01654101) 과제의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

## References

1. Creux N, Harmer S. Circadian rhythms in plants. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2019;11:a034611.
2. Srivastava D, Shamim M, Kumar M, Mishra A, Maurya R, Sharma D, et al. Role of circadian rhythm in plant system: an update from development to stress response. Environ Exp Bot. 2019;162:256-271.
3. Venkat A, Muneer S. Role of circadian rhythms in major plant metabolic and signaling pathways. Front Plant Sci. 2022;13:836244.
4. Oravec MW, Greenham K. The adaptive nature of the plant circadian clock in natural environments. Plant Physiol. 2022;190:968-980.
5. Harmer SL, Panda S, Kay SA. Molecular bases of circadian rhythms. Annu Rev Cell Dev Biol. 2001;17:215-253.
6. Gil KE, Kim WY, Lee HJ, Faisal M, Saquib Q, Alatar AA, et al. ZEITLUPE contributes to a thermoresponsive protein quality control system in Arabidopsis. Plant Cell. 2017;29:2882-2894.
7. Shalit-Kaneh A, Kumimoto RW, Filkov V, Harmer SL. Multiple feedback loops of the Arabidopsis circadian clock provide rhythmic robustness across environmental conditions. Proc Natl Acad Sci USA. 2018;115:7147-7152.
8. Robertson McClung C. Plant circadian rhythms. Plant Cell. 2006;18:792-803.
9. Gil KE, Park CM. Thermal adaptation and plasticity of the plant circadian clock. New Phytol. 2019;221:1215-1229.
10. Más P, Kim WY, Somers DE, Kay SA. Targeted degradation of *TOC1* by *ZTL* modulates circadian function in *Arabidopsis thaliana*. Nature. 2003;426:567-570.
11. Cha JY, Kim J, Kim TS, Zeng Q, Wang L, Lee SY, et al. *GIGANTEA* is a co-chaperone

- which facilitates maturation of ZEITLUPE in the Arabidopsis circadian clock. *Nat Commun.* 2017;8:3.
12. Nakamichi N, Kusano M, Fukushima A, Kita M, Ito S, Yamashino T, et al. Transcript profiling of an Arabidopsis PSEUDO RESPONSE REGULATOR arrhythmic triple mutant reveals a role for the circadian clock in cold stress response. *Plant Cell Physiol.* 2009;50:447-462.
  13. Kim WY, Ali Z, Park HJ, Park SJ, Cha JY, Perez-Hormaeche J, et al. Release of SOS2 kinase from sequestration with GIGANTEA determines salt tolerance in Arabidopsis. *Nat Commun.* 2013;4:1352.
  14. Fornara F, de Montaigu A, Sánchez-Villarreal A, Takahashi Y, Ver Loren van Themaat E, Huettel B, et al. The GI-CDF module of Arabidopsis affects freezing tolerance and growth as well as flowering. *Plant J.* 2015;81:695-706.
  15. Legnaioli T, Cuevas J, Mas P. TOC1 functions as a molecular switch connecting the circadian clock with plant responses to drought. *EMBO J.* 2009;28:3745-3757.
  16. Keily J, MacGregor DR, Smith RW, Millar AJ, Halliday KJ, Penfield S. Model selection reveals control of cold signalling by evening-phased components of the plant circadian clock. *Plant J.* 2013;76:247-257.
  17. Cao S, Ye M, Jiang S. Involvement of GIGANTEA gene in the regulation of the cold stress response in Arabidopsis. *Plant Cell Rep.* 2005;24:683-690.
  18. Dong MA, Farré EM, Thomashow MF. Circadian clock-associated 1 and late elongated hypocotyl regulate expression of the C-repeat binding factor (CBF) pathway in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108:7241-7246.
  19. Jung JH, Domijan M, Klose C, Biswas S, Ezer D, Gao M, et al. Phytochromes function as thermosensors in Arabidopsis. *Science.* 2016;354:886-889.
  20. Legris M, Klose C, Burgie ES, Rojas CCR, Neme M, Hiltbrunner A, et al. Phytochrome B integrates light and temperature signals in Arabidopsis. *Science.* 2016;354:897-900.
  21. Salome PA, McClung CR. PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 7 and 9 are partially redundant genes essential for the temperature responsiveness of the Arabidopsis circadian clock. *The Plant Cell.* 2005;17:791-803.
  22. Nagel DH, Pruneda-Paz JL, Kay SA. FBH1 affects warm temperature responses in the Arabidopsis circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111:14595-14600.
  23. Kolmos E, Chow BY, Pruneda-Paz JL, Kay SA. HsfB2b-mediated repression of PRR7 directs abiotic stress responses of the circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111:16172-16177.
  24. Stockinger EJ, Gilmour SJ, Thomashow MF. Arabidopsis thaliana CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. *Proc Natl Acad Sci.* 1997;94:1035-1040.
  25. Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-tempera-

- ture-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 1998;10:1391-1406.
26. Harmer SL, Hogenesch JB, Straume M, Chang HS, Han B, Zhu T, et al. Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science*. 2000;290:2110-2113.
  27. Maruyama K, Sakuma Y, Kasuga M, Ito Y, Seki M, Goda H, et al. Identification of cold-inducible downstream genes of the *Arabidopsis* DREB1A/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems. *Plant J*. 2004;38:982-993.
  28. Nakamichi N, Kiba T, Kamioka M, Suzuki T, Yamashino T, Higashiyama T, et al. Transcriptional repressor PRR5 directly regulates clock-output pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109:17123-17128.
  29. Nohales MA, Kay SA. Molecular mechanisms at the core of the plant circadian oscillator. *Nat Struct Mol Biol*. 2016;23:1061-1069.
  30. Hsu PY, Devisetty UK, Harmer SL. Accurate timekeeping is controlled by a cycling activator in *Arabidopsis*. *eLife*. 2013;2:e00473.
  31. Hsu PY, Harmer SL. Wheels within wheels: the plant circadian system. *Trends Plant Sci*. 2014;19:240-249.
  32. Kamioka M, Takao S, Suzuki T, Taki K, Higashiyama T, Kinoshita T, et al. Direct repression of evening genes by CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED1 in the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant Cell*. 2016;28:696-711.
  33. Silva CS, Nayak A, Lai X, Hutin S, Hugouvieux V, Jung JH, et al. Molecular mechanisms of evening complex activity in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117:6901-6909.
  34. Chen WW, Takahashi N, Hirata Y, Ronald J, Porco S, Davis SJ, et al. A mobile ELF4 delivers circadian temperature information from shoots to roots. *Nat Plants*. 2020;6:416-426.
  35. Jung JH, Barbosa AD, Hutin S, Kumita JR, Gao M, Derwort D, et al. A prion-like domain in ELF3 functions as a thermosensor in *Arabidopsis*. *Nature*. 2020;585:256-260.
  36. Kidokoro S, Hayashi K, Haraguchi H, Ishikawa T, Soma F, Konoura I, et al. Posttranslational regulation of multiple clock-related transcription factors triggers cold-inducible gene expression in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2021;118:e2021048118.
  37. Lee JH, Kim JY, Kim JI, Park YJ, Park CM. Plant thermomorphogenic adaptation to global warming. *J Plant Biol*. 2020;63:1-9.
  38. Quint M, Delker C, Franklin KA, Wigge PA, Halliday KJ, Van Zanten M. Molecular and genetic control of plant thermomorphogenesis. *Nat Plants*. 2016;2:15190.
  39. Gould PD, Locke JCW, Larue C, Southern MM, Davis SJ, Hanano S, et al. The molecular basis of temperature compensation in the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant Cell*. 2006;18:1177-1187.
  40. Karayekov E, Sellaro R, Legris M, Yanovsky MJ, Casal JJ. Heat shock-induced fluctuations in clock and light signaling enhance phytochrome B-mediated *Arabidopsis*

- deetiolation. *Plant Cell*. 2013;25:2892-2906.
41. Grundy J, Stoker C, Carré IA. Circadian regulation of abiotic stress tolerance in plants. *Front Plant Sci*. 2015;6:648.
42. Zhu JY, Oh E, Wang T, Wang ZY. TOC1-PIF4 interaction mediates the circadian gating of thermoresponsive growth in *Arabidopsis*. *Nat Commun*. 2016;7:13692.
43. Park YJ, Kim JY, Lee JH, Lee BD, Paek NC, Park CM. GIGANTEA shapes the photo-periodic rhythms of thermomorphogenic growth in *Arabidopsis*. *Mol Plant*. 2020;13:459-470.
44. Zeng Y, Wang J, Huang S, Xie Y, Zhu T, Liu L, et al. HSP90s are required for hypocotyl elongation during skotomorphogenesis and thermomorphogenesis via the COP1-ELF3-PIF4 pathway in *Arabidopsis*. *New Phytol*. 2023;239:1253-1265.
45. Balcerowicz M. Thermomorphogenesis goes like clockwork: how the circadian clock fine-tunes temperature responses through competing transcriptional repressors. *New Phytol*. 2023;237:9-11.
46. Hwang G, Park J, Kim S, Park J, Seo D, Oh E. Overexpression of BBX18 promotes thermomorphogenesis through the PRR5-PIF4 pathway. *Front Plant Sci*. 2021;12:782352.
47. Fujiwara S, Wang L, Han L, Suh SS, Salomé PA, Robertson McClung C, et al. Post-translational regulation of the *Arabidopsis* circadian clock through selective proteolysis and phosphorylation of pseudo-response regulator proteins. *J Biol Chem*. 2008;283:23073-23083.
48. Kiba T, Henriques R, Sakakibara H, Chua NH. Targeted degradation of PSEUDO-RESPONSE REGULATOR5 by an SCFZTL complex regulates clock function and photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*. 2007;19:2516-2530.
49. Miyazaki Y, Takase T, Kiyosue T. ZEITLUPE positively regulates hypocotyl elongation at warm temperature under light in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*. 2015;10:e998540.
50. Saitoh A, Takase T, Abe H, Watahiki M, Hirakawa Y, Kiyosue T. ZEITLUPE enhances expression of PIF4 and YUC8 in the upper aerial parts of *Arabidopsis* seedlings to positively regulate hypocotyl elongation. *Plant Cell Rep*. 2021;40:479-489.
51. Box MS, Emma Huang B, Domijan M, Jaeger KE, Khattak AK, Yoo SJ, et al. ELF3 controls thermoresponsive growth in *Arabidopsis*. *Curr Biol*. 2015;25:194-199.
52. Nusinow DA, Helfer A, Hamilton EE, King JJ, Imaizumi T, Schultz TF, et al. The ELF4-ELF3-LUX complex links the circadian clock to diurnal control of hypocotyl growth. *Nature*. 2011;475:398-402.
53. Seo D, Park J, Park J, Hwang G, Seo PJ, Oh E. ZTL regulates thermomorphogenesis through TOC1 and PRR5. *Plant Cell Environ*. 2023;46:1442-1452.
54. Wang R, Zhang Y, Kieffer M, Yu H, Kepinski S, Estelle M. HSP90 regulates temperature-dependent seedling growth in *Arabidopsis* by stabilizing the auxin co-receptor F-box protein TIR1. *Nat Commun*. 2016;7:10269.
55. Kidokoro S, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory network of plant cold-stress responses. *Trends Plant Sci*. 2022;27:922-935.