

식물의 Ascorbic Acid의 기능과 대사경로

박양호[†] · 이주영 · 장병춘 · 이기상

농업과학기술원

Functions and Metabolic Pathway of Ascorbic Acid in Plant

Yang-Ho Park[†], Ju-Young Lee, Byoung-Choon Jang, and Ki-Sang Lee

National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-707, Korea

ABSTRACT : During the last few years, considerable progresses have been made in understanding of roles and biosynthesis of ascorbic acid (AsA) in plants. The concentrations of ascorbic acid is 2-4 mM in leaf cells, but much higher at the chloroplast. There are three forms of ascorbic acid in the plant mainly ascorbic acid (AsA), monodehydroascorbic acid (MDHA) and dehydroascorbic acid (DHA). AsA in plant cell performs antioxidants by changing those three forms. And AsA promotes cell division and elongation. There was new pathway of ascorbic acid metabolism. It is called pathway of Smirnoff-Wheeler. This report will provide understanding of AsA in plants, and also provide

Keywords: AsA(ascorbic acid, vitamin C), DHA, antioxidant, biosynthesis

최근 연구 결과에 따르면 14번째의 비타민이 발견되었다고는 보고가 있다. 14번째 비타민은 pyrroloquinolin quinon(PQQ)이라는 물질로 식품의 콩, 파세리, 피망, 녹차, 우롱차 등에 많이 함유되어 있으며(Kasahara & Kato, 2003), 동물 체내에서 PQQ는 필수 아미노산인 lysine 분해작용에 관여하는 효소, amino adipic semialdehyde dehydrogenase에 결합하는 보조효소으로 보고되었다(Kasahara & Kato, 2003). 이 비타민은 사람에게 있어 식품으로 섭취할 필요가 있는 비타민으로 알려지고 있다(Fig. 1).

또한 AsA는 사람에 있어 필수 불가결한 영양성분으로 성인 1인 필요량 50-100mg(Sauberlich, 1990)이지만 인간 등의 영장류는 체내에서 ascorbic acid를 합성할 수 없기 때문에 주 섭취원인 채소류 등을 통해 외부로부터 섭취해야 한다. 인간 체내에서 AsA 기능은 항암효과, 신장질환예방, 비만, 당뇨 예방, 노화예방의 효과가 있다(Horemans *et al.*, 2000). 채소류로부터 인간이 얻을 수 있는 중요한 영양성분중의 한가지인

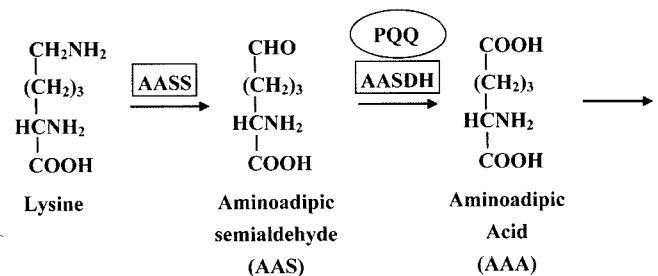


Fig. 1. Initial steps of lysine degradation. Lysine is oxidized to amino adipic semialdehyde (AAS) catalyzed by AAS synthetase (AASS), and then oxidized furthermore by AAS dehydrogenase (AASDH). In the second step, pyrroloquinolin quinon (PQQ) functions as a redox cofactor.

AsA는 녹황색 체소와 과일 등의 주요한 성분으로서, 식물체 내에서의 기능과 대사 단계를 이해 해야 할 필요성이 있다. 따라서 본 논문은 식물체 내에서의 ascorbic acid의 기능과 최근 새롭게 재 정립된 ascorbic acid 대사 경로를 정리 보고하기 위한 것이다.

식물에서의 Ascorbic Acid 분포 및 형태

식물체 내에서의 ascorbic acid 평균 함량은 2-4mM로 알려져 있다(米山 & 朴, 2002). 세포 소기관내 농도는 기관별로 큰 차이가 나는 것으로 알려져 있다(Foyer *et al.*, 1983; Foyer & Lelandais, 1996).

식물세포 중 ascorbic acid 분포는 30-40%가 세포질(10-20 mM)에, 20-25%가 엽록체(25-50mM)에, 20-30%가 액포(0.6-1mM)에, 5-10%가 apoplaste에 존재하고 있다(Horemans *et al.*, 2000). Ascorbic acid 함량은 어린 엽 즉, 성장이 왕성한 엽에서 고농도로 존재하는 것으로 알려져 있다(Luwe *et al.*, 1993)(Fig. 2).

식물체내에서 ascorbic acid는 세가지 형태로 존재하고 있

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-290-0329 (E-mail) pl23pyh@rda.go.kr
<Received July 13, 2005>

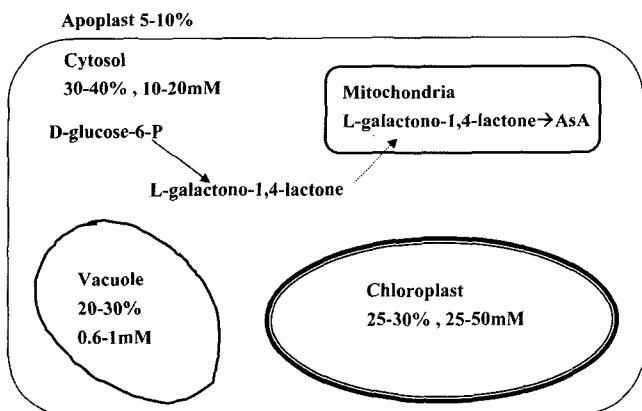


Fig. 2. Ascorbic acid accumulation in plant cell organelles. The relative occurrence of ascorbic acid in different compartment is given as percentages. The final step of AsA biosynthesis, which is convert from L-galactono-1,4-lactone to AsA, is occurred on the inner mitochondrial membrane (Horemans *et al.*, 2000).

다. 대부분이 환원형 ascorbic acid(AsA)로 존재하고 나머지는 산화형 ascorbic acid(dehydroascorbate, DHA)이며 그 중간형태인 MDHA(ascorbate free radical, semidehydroascorbate or monodehydroascorbate)는 식물체 내에서 극히 미량으로 존재하는데 이는 AsA 형태로 환원되거나 DHA 형태로 빨리 산화되거나 때문이다($k_2(\text{pH } 7)=10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{S}^{-1}$) (Skotland T *et al.*, 1980).

AsA의 산화·환원 과정을 AsA-GSH cycle 혹은 Halliwell-Foyer-Asada pathway(Davey *et al.*, 2000)라고 한다. 이 과정을 자세히 설명하면 다음과 같다(Fig. 3).

AsA가 O_2 와 반응하여 ascorbate oxidase에 의해 DHA로 산화되며 H_2O_2 와 반응하여 ascorbate peroxidase에 의해 MDHA로 산화 된다. 이 MDHA는 식물체 내에서 불안정하므로 NAD(P)H를 소비하여 NAD(P)⁺를 생성하는 monodehydroascorbate reductase에 의해 AsA로 환원되거나, 혹은 완전 산화형인 DHA로 산화되어 버린다. Ascorbate oxidase에 의해 생성된 DHA나, MDHA가 산화되어 생성된 DHA는 dehydorascorbate reductase와 glutathione(GSH)를 glutathione disulphide(GSSG)로 산화시키는 glutathione reductase의 반응에 의해 환원되어 AsA로 환원된다(Foyer & Halliwell, 1976; Noctor & Foyer, 1998). 한편 일부 DHA는 물과 결합하여 2,3-diketo-1-gluconic acid로 변환된다(Deutsch *et al.*, 1998). 이와 같은 AsA 산화 과정이나 DHA의 가수분해는 농도, 온도, 및 pH 등에 영향을 받는다.

식물에서의 AsA의 기능

항산화 기능

식물체에 있어 AsA 연구 중 가장 중요시되고 있는 기능은 활성산소로부터의 엽록체의 보호기능 즉 항산화기능이다. 광합성이나 광호흡에서 생성된 O_2^- (Foyer *et al.*, 1996) 또는 과

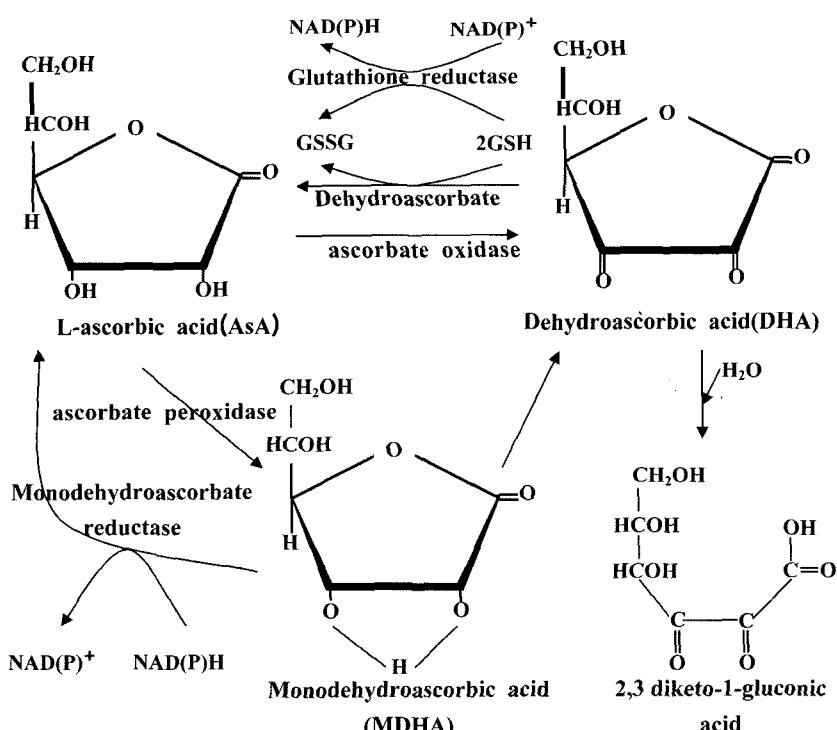


Fig. 3. Ascorbic acid and its oxidation products.

산화수소(H_2O_2) 등을 식물에서의 AsA분포 및 형태에서 명시한 AsA-GSH cycle에 의해 제거 된다. 이 반응은 식물체 내 엽록체, 세포질, peroxisomes, apoplaste 등 세포 여러곳에서 발견되고 있다. 이런 활성산소류(reactive oxygen species, ROS)는 고광도 조건과 한발, 양분결핍, 극한 온도조건 상처, 염류의 집적, 오존 등의 오염물질에 노출 등과 같은 환경적 불균형 조건 일 경우 많이 발생하는것으로 알려져있다. 이런 ROS에 의한 노출은 단백질 파괴, DNA파괴, 더나아가서는 세포의 고사등으로 이어진다(Foyer et al., 1994). 이와 같이 AsA는 다른 저분자 항산화물질인 glutathione, vitamin E, carotenoids, phenolics 등과 같이 ROS 등에 비 효소 반응으로 직접 결합하여, 제거하는 기능을 가지고 있다.

세포 분열의 촉진

AsA는 세포 분열과 밀접한 관계를 가지고 있다. 일반적으로 분열조직에 AsA농도가 높게 분포되어 있으며, 옥수수 뿌리에서 분열이 일어나고 있는 중앙에 분열이 거의 일어나지 않는 부위인 정지중심(quiescent center)세포에서는 낮은 농도의 AsA가 존재하고 있는것으로 알려져 있다(Smirnoff 1996). 양파(*Allium cepa*)와 완두(*Pisum sativum*)의 초기 뿌리 세포의 분열시 AsA첨가가 세포분열을 촉진시켰으며(Citterio et al., 1994), 또한 최근에는, 담배 BY-2 세포에서 분열기가 아닌 세포의 ascorbate oxidase mRNA량과 활성도는 낮았으나, 세포분열이 시작되면 증가한다는 보고도 있다(Kato & Esaka, 1999). 이와 같은 연구 보고들에 의해 AsA는 세포분열에 관계를 하고 있으나, 이 관계의 메커니즘에 대한 자세한 연구는 아직 까지 보고된 것이 없으며 AsA-GSH cycle에 의한 반응에 의한것으로 생각되어지고 있다.

세포 성장의 촉진

환원형 AsA와 산화형인 DHA, 혹은 MDHA는 세포 분열과 더불어 세포 성장에도 관련이 있다는 보고가 있다. 예를 들면 양파 뿌리 세포의 성장에 AsA를 첨가하면 세포 성장이 촉진되었다(Gonzalez-Reyes et al., 1995). AsA가 세포 성장에 작용하는 메커니즘은 첫째 AsA는 세포벽 구성 단백질의 hydroxyprolinerich 합성효소의 prolyl-hydroxylase의 중요 cofactor이며, 둘째 AsA는 세포질에서 MDHA로 산화 되며

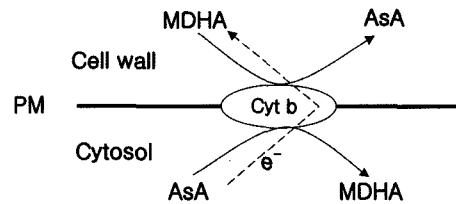
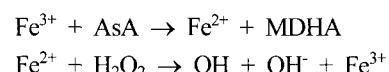


Fig. 4. Proposed relationship between the ascorbate system in the cytosol and cell wall and its role in cell wall expansion. PM : plasma membrane, MDHA accepts electrons from a membrane-bound cytochrome b. Cytoplasmic ascorbic acid is a possible electron donor. Membrane depolarization, caused by transmembrane electron transport.

이 과정은 또한 plasma membrane의 cytochrome b를 거쳐 apoplaste의 MDHA를 AsA환원시키는데, 이과정에서 전달되는 전자와 AsA존재에 의한 세포벽의 산성화등에 의해 세포 확장의 자극 역할을 한다(Rayle & Cleland, 1992)(Fig. 4).

효소의 보조인자

동·식물체 중의 AsA의 역할중 가장 잘 알려진 것은 식물체 내에서 다양한 효소들의 cofactor로 관여하고 있는점이다. AsA에 의해 활성이 조절되는 효소들의 대부분의 효소는 mono- 혹은 dioxygenases 형태로 중앙의 금속이온이 철, 혹은 구리로 되어 있는 효소들이다. AsA에 의해 중앙 금속이온이 환원되어 각효소의 활성이 조절되는것으로 보고되고 있다(Padhy, 1990). 그반응식은 다음과 같이 설명할수 있으나 생체내(*in vivo*) 상태에서의 반응에 관한 확실한 증거는 보고된 바가 없다(Diplock et al., 1998).



또한 본 저자의 연구결과 nitrate Reductase의 활성(단 nitrate 환원시)에도 정의 영향을 준다는 결과를 얻을수 있었다(Park et al., 2005)(Table 1).

식물체내 AsA의 대사과정

식물체내 AsA의 대사 과정은 완두(*Pisum sativum*)와 애기

Table 1. Enzymes which are modulated activity by AsA at plant (Davey et al., 2000).

Enzyme	Metal ion	Change in activity	Role	Enzymatic activity
Lysine hydroxylase	Iron	Increase	Extensin biosynthesis	Hydroxylation of lysine
Procollagen praline	Iron	Increase	Extensin biosynthesis	Hydroxylation of praline (3-hydroxylating)
2-oxoglutarate 3 dioxygenase				
Gibberellin3- β -dioxygenase	Iron	Increase	Gibberein biosynthesis	C_{20} oxidative decarboxylation and activation of gibberellins
Thioglucoside glucohydrolase		Increase	Catabolism of glucosinolates	Hydrolysis of S-glucosides

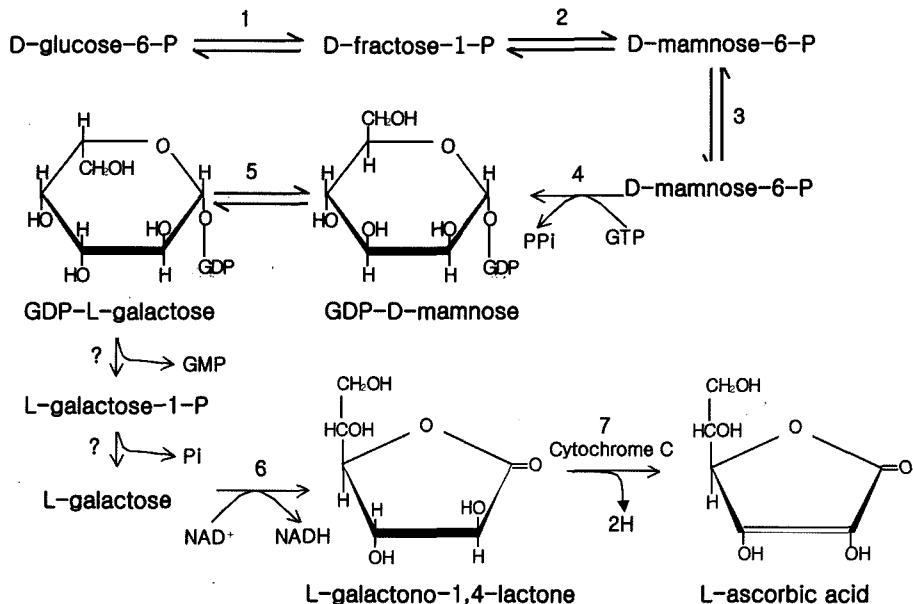


Fig. 5. Pathway for ascorbic acid biosynthesis in higher plants (米·朴, 2002). Enzymes 1. phosphoglucomutase, 2. phosphomannose isomerase, 3. phosphomannomutase, 4. GDP-D-mannose pyrophosphorylase, 5. GDP-D-mannose-3,5-epimerase, 6. L-galactose dehydrogenase, 7. L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase.

장대(*Arabidopsis*)을 통해 1998년 Wheeler 등에 의해 재정립되었다. 기존의 AsA 대사 과정은 동물의 경우 D-glucose를 출발물질로 하여 L-galactonic acid의 입체배치의 역전(inversion) 과정을 거쳐 탈수소효소반응에 의해 L-galactonono 1,4 lactone으로 전환된 뒤 L-galactono 1,4 lactone dehydrogenase에 의해(사람은 이효소결핍으로 ascorbic acid 합성 불가능) AsA를 합성하나 식물체는 동물체와는 달리 입체배치의 역전이 일어 나지 않는, D-glucose로부터 L-glucoseone을 거쳐 L-sorbose로 변환된 AsA가 합성되어진다고 하였다. 그러나 Wheeler 등에 의해 Fig. 4와 같이 GDP-D-mannose와 L-galactose를 거쳐 새롭게 인식된 NAD⁺의존의 L-galactose dehydrogenase 반응의 의해 산화되어 L-galactono-1,4 lactone이 되며 처음 합성 시작 물질인 D-glucose-6-P부터 이 반응까지는 세포질에서 이루어지며, L-galactono-1,4 lactone을 전구물질로서 세포소기관의 mitochondria(다량의 L-galactono-1,4 lactone이 이곳에서 발견됨, Bartoli *et al.*, 2000)의 cytochrome c를 환원제로서 AsA를 생성한다고 보고하였다(Fig. 5).

AsA 합성은 애기장대 엽에서는 1시간당 AsA 총량의 2.5% (Conklin *et al.*, 2001), 시금치엽에서는 약 2%(Yoneyama *et al.*, 1997) 정도이지만 생장이 완성한 완두 유식물 배추에서는 1시간당 13%(Pallanca & Smiroff, 2000)의 AsA가 합성된다고 보고되었다.

식물체에서의 AsA 수준 조절

지금까지 연구결과에 의하면 식물체 내의 AsA 대사과정의

조절에 대한 것은 거의 알려 진바가 없다. 보통 식물체 내의 AsA 수준은 광의존적으로 증대하는데, 이는 L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase가 광의존적이며(Smiroff, 2000), 또한 광합성증대에 의해 탄수화물 합성이 증대 되기 때문이다. 인위적으로 식물체내의 AsA수준 조절 방법으로서 담배엽, 옥수수 엽(광합성 기구)과 알갱이(비광합성 기구)에서 AsA 농도를 2-4배 증대시키는 것이 가능하다는 연구 보고 가있다(Chen *et al.*, 2003). 이 보고에 의하면 dehydroascorbate reductase (DHAR) 유전자를 밀로부터 클로닝하여, 담배와 옥수수에 도입후, DHAR 활성을 11 내지 100배로 증가시켰다. 그 결과 DHAR 유전자를 투입한 작물에 생육저하 현상 및, ascorbic acid를 생성하는 L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase의 활성에도 변화가 없었으며 단지 ascorbic acid recycling만 증대되어 담배와 옥수수 엽과 종실에서 환원형 AsA 량이 2내지 4배증가 되었다. 이는 Ascorbate recycling(DHA → AsA)을 촉진시켜 환원형 AsA 량을 증가 시킨것이다.

아직 식물체에 있어서 AsA에 대한 연구는 진행상태에 있으며, 두개의 AsA 결핍 돌연변이(ozone 민감형)가 애기장대에서 발견되었다. 이는 *vtc1-1*과 *vtc1-2*(Conklin *et al.*, 2001)로 명명되었으며 애생종 ascorbic acid 총함량의 30%인것으로 알려졌다. *VTC1*은 ascorbic acid의 대사과정 중 중간 물질인 D-mannose-1-phosphate로부터 GDP-mannose(Fig. 4)를 생성하는 GDP-D-mannose pyrophosphorylase 유전자에 이상이 있는것으로 밝혀졌다. 따라서 이 *VTC1*는 wild type과 비교하여 총 AsA 수준이외에 AsA대사 과정에서 생성되는 GDP-mannose량도 적은것으로 알려져 있다. AsA의 식물체내의 대사

과정이 확실해진것과 AsA결핍 돌연변이가 발견됨에 따라, 앞으로 식물체내의 AsA 함량을 증가 시키거나, 식물생장과 대사 생리에 있어서 AsA의 기능에 대하여 보다 확실해질것이라고 기대되어진다. 이 논문을 통해 식물체 내의 AsA 기능과 대사에 관한 지식을 소개함에 있어 식물체 내의 AsA에 대한 이해가 증진되며, AsA에 대한 연구가 보다 활발히 이루어지길 희망하며, 또한 인간의 주요 AsA섭취원인 채소류에 대하여 AsA 농도 증가에 관한 연구가 계속 이루어져야 할 것으로 사료 된다.

사 사

본 논문은 2005년도 농촌진흥청 농업과학기술원 박사후 연수 과정 지원 사업에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Bartoli, C., G. Pastri, and C. Foyer. 2000. Ascorbate biosynthesis in mitochondria is linked to the electron transport chain between complexes III and IV. *Plant Physiology* 123 : 335-343.
- Citterio, S., S. Sgorbati, S. Scippa, and E. Sparvoli. 1994. Ascorbic acid effect on the onset of cell proliferation in pea root, *Physiologia Plantarum* 92 : 601-607.
- Chen, Z., T. E. Young, J. Ling, S. C. Chang, and D. R. Gallie. 2003. Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 : 3524-3530.
- Conklin, P. L., J. E. Pallanca, R. L. Last, and N. Smirnoff. 2001. L-ascorbic acid metabolism in the ascorbate-deficient *Arabidopsis* mutant *vtcl*. *Plant Physiology* 115 : 1277-1285.
- Davey, M. W., M. Montagu, D. Inze, M. Sanmarthin, A. Kanellis, N. Smirnoff, I. J. Benzie, J. Strain, D. Favell, and J. Fletcher. 2000. Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 825-860.
- Diplock, A. T., J. L. Charleux, G. W. Crozier, F. J. Kok, C. E. Rice, M. Roberfroid, W. Sahl, and J. R. Vine. 1998. Functional food science and defence against reactive oxygen species. *British Journal of Nutrition* 80 : 77-112.
- Deutsch, J. C. 1998. Spontaneous hydrolysis and dehydration of dehydroascorbic acid in aqueous solution. *Annual Review of Biochemistry* 260 : 223-229.
- Foyer, C. H. and B. Halliwell. 1976. Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposal in ascorbic acid metabolism. *Planta* 133 : 21-25.
- Foyer, C. H., J. Rowell, and D. Walker. 1983. Measurements of the ascorbate concentration of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination. *Planta* 157 : 239-244.
- Foyer, C. H., M. Lelandais, and K. J. Kunert. 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* 92 : 696-717.
- Foyer, C. H. and M. Lelandais. 1996. A comparison of the relative rates of transport of ascorbate and glucose across the thylakoid, chloroplast and plasmalemma membranes of pea leaf mesophyll cell. *Journal of Plant Physiology* 148 : 391-398.
- Gonzalez-Reyes, J. A., F. J. Alcain, J. A. Caler, A. Serano, F. Cordoba, and P. Navas. 1995. Stimulation of onion root elongation by ascorbate and ascorbate free radical in *Allium cepa L.*, *Protoplasma* 184 : 31-35.
- Horemans, N., C. H. Foyer, G. Potters, and H. Asard. 2000. Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 38 : 531-540.
- Kato, N. and M. Esaka. 1999. Changes in ascorbate oxidase gene expression and ascorbate levels in cell division and cell elongation in tobacco cells. *Physiologia Plantarum* 105 : 321-329.
- Luwe, M. W. F., U. Takahama, U. Heber. 1993. Role of ascorbate in detoxifying ozone in the apoplast of spinach(*Spinacia oleracea L.*) leaves, *Plant Physiology* 101 : 969-976.
- Kasahara, T. and T. Kato. 2003. A new redox-cofactor vitamin for mammals. *Nature* 422 : 832.
- Noctor, G. and C. H. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49 : 249-279.
- Padh, H. 1990. Cellular functions of ascorbic acid. *Biochemistry and Cell Biology* 68: 1166-1173.
- Pallanca, J. E. and N. Smirnoff. 2000. The control of ascorbic acid synthesis and turnover in pea seedling. *Journal of Experimental Botany* 51 : 669-674.
- Park, Y. H., S. Fujihara S. and T. Yoneyama. 2005. Effect of ascorbic acid on in vivo nitrite assimilation in the leaf sections of spinach (*Spinacia oleracea L.*).
- Rayle, D. L. and R. E. Cleland. 1992. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiology* 99 : 1271-1274.
- Sauberlich, H. E. 1990. Ascorbic acid. *In Present Knowledge in Nutrition*, ed by Brown M.L. 6th International Life Sciences, Institute Nutrion Foundation. p.132-141.
- Smirnoff, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plant. *Annals of Botany* 78 : 661-669.
- Smirnoff, N. 2000. Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* 355 : 1455-1464.
- Skotland, T. and T. Ljones. 1980. Direct spectrophotometric detection of ascorbate free radical formed by doopaminemonooxygenase and ascorbate reductase, *Biochimica et Biophysica Acta*. 630 : 30-35.
- Wheeler, G. L., M. A. Jones, and N. Smirnoff. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature* 393 : 365-369.
- Yoneyama T., M. Yasuda, S. Sato, and M. Takebe. 1997. $^{13}\text{CO}_2$ feeding studies on the metabolism of carbohydrates, ascorbate and oxalate in spinach(*Spinacia oleracea L.*) *Soil Science and Plant Nutrition* 43 : 1147-1151.
- 米山忠克, 朴養虎. 2002. 新しくなった植物アスコルビン酸(ビタミンC)の合成経路・農業および園芸, 77 : 41-43.
- 米山忠克, 朴養虎. 2003. 植物が生産する三つのビタミン, VA, VC, VEを増大する 農業および園芸, 78 : 1173-1174.