

Biochemical Properties and Physiological Functions of Plant β -D-fructofuranosidase

Donggiun Kim*

Department of Life Science, Silla University, Busan 46958, Korea

Received July 16, 2017 / Revised July 23, 2017 / Accepted July 25, 2017

The β -D-fructofuranosidase (EC 3.2.1.26) is an important enzyme from a historical point of view, discovered by French biologist Berthelot in 1860 and was first used to study enzymology. β -D-fructofuranosidase catalyzes the hydrolysis of sucrose into D-glucose and D-fructose. Four biochemical subgroups of β -D-fructofuranosidase have been investigated in plants. There are vacuolar (soluble acid), cytoplasmic (soluble alkaline), membrane-bound (insoluble alkaline), and cell wall-bound (insoluble acid) β -D-fructofuranosidase by purification. Their biochemical characteristics are distinct. It suggested that those enzymes might be different gene products. The contribution of each of these enzymes to sucrose management in the plant is likely to be correlated with their localization. Common localization in developing cells in tissues from a range of developmental stages and plant parts suggests that all of the isoforms may be closely involved in nutrient transport. The β -D-fructofuranosidases were most commonly found associated with maturing tissues in developing fruits, leaves, and roots. The β -D-fructofuranosidase activity varies in the relationship between growth and expansion through cell division, development of storage organs and tissues, and the relationship of plant defense responses. It is necessary to summarize more researches in order to know the definite physiological function.

Key words : β -D-fructofuranosidase, characterization, plant, sucrose, sugar movement

서론

효소 연구사에 중요성

β -D-fructofuranosidase는 역사적 관점에서 중요한 효소로, 1860년 프랑스 생물학자 Berthelot [5]에 의해 발견되었고 효소학을 연구하는데 처음으로 사용되었다. 그리고 효소의 β -D-fructofuranosidase는 Leonor Michaelis와 Maude Menten의 논문이 1913년에 이 효소가 사용되어 반응 속도론이 연구되고 발표된 이래 생화학과 첨단과학이 급속도로 발전하는데 기여해왔다. 고전적 효소기능 분석은 2개의 Michaelis-Menten 파라미터인 V_{max} 및 K_m 값을 결정하고 지금도 동일효소를 비교 할 경우 이 방법을 사용한다. Michaelis-Menten 반응 속도론을 사용한 효소 특성화 표준방법은 β -D-fructofuranosidase를 사용하는 방법 이었고 이제는 효소 구조학연구와 3-D 재구성 연구에 표준효소로 사용되고 있다[62]. β -D-fructofuranosidase는 또 invertase (역전 효소)라 명명해서 별명으로 부르는데 그 이유는 자당(sucrose)을 포도당 및

과당으로 전환시키는 효소의 활성은 분석 용액의 광학 회전을 양성에서 음성으로 변화시킨 결과에서 유래되었다. 자당의 특정 광학 회전은 $+29^\circ$ 이고 포도당과 과당의 동물의 물 용액의 회전은 -9° 이다. 즉 $+$ 가 $-$ 로 변화되어 inverse 시키는 효소라는 뜻이다. β -D-fructofuranosidase는 sucrose (1-a-D-glucopyranosido-2- β -D-fructofuranoside)가 가장 좋은 기질이기 때문에 때때로 "sucrase"라고 불린다. 이 식물 효소가 β -D-fructofuranosidase이기 때문에 식물 '수크라제'는 동물의 수크라제 (sucrose a-D-glucohydrolase, EC 3.2.1.48)와는 다르다[9]. Invertase는 fructosyl 쪽에서 활성자리로 인식되는 효소이기 때문에 β -D-fructofuranosidase (EC 3.2.1.26)로 표현하는게 더 정확하다(Fig. 1) [18]. 이 효소는 균류(효모)와 식물에서 발견되어왔다.

효모의 β -D-fructofuranosidase

곰팡이(효모) β -D-fructofuranosidase는 최근의 생화학 및 분자 연구[12, 17, 23, 41]에 사용되어왔다. 효모의 β -D-fructo-

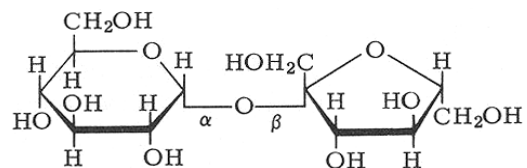


Fig. 1. Sucrose structure. The β -fructosyl hexose sugar indicates site of attack by β -D-fructofuranosidase (EC 3.2.1.26).

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-6915, Fax : +82-51-999-6406

E-mail : botanist@silla.ac.kr

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

fructofuranosidase 기능 및 다른 자당 분해 효소와의 관계, 그리고 촉매 작용(기질 결합, pH 의존성, 억제제의 작용)에 대한 많은 면들이 광범위하게 연구되었다. 효소 β -D-fructofuranosyl 잔기를 함유하고 있어야 한다. 효소는 Fructose의 C-6 및 C-3에서 글루코시드 산소 및 OH 그룹을 통해 이 잔기와 주로 결합한다. 활성 형태의 효소는 기질 결합을 위한 양성자가 없는 산성기와 기질 분해를 위한 양성자화 된 이미다졸 잔기를 필요로 한다. Sulfhydryl 그룹은 촉매 작용에 참여하는데, 이는 시스테인에 의해 몇 배 증가 할 수 있고 β -D-fructofuranosidase 효소는 Hg 또는 Ag에 의해 불활성화 될 수 있기 때문이다[31,42,43]. 내부 효소(세포질에 위치)로 비 당화 효소이며, 외부(벽/막과 결합 된) 효소로 고도로 만노오스-당질화 효소(Lampen, 1971) 형태로 두 가지 유형의 효소 β -D-fructofuranosidase가 있다. 이 효소들은 분리되어 음식물가공이나 그 응용에 활용 되고 있다[8]. 그 유전자들은 식물에 발현되어 식물 β -D-fructofuranosidase와 생리적 기능을 비교하는 연구가 수행 되어 왔다[58].

본 론

식물의 β -D-fructofuranosidase

β -D-fructofuranosidase는 식물에 널리 분포되어 있으며, 존재를 설명하는 수많은 연구가 발표되었다. 이 효소의 가능

한 생리학적 역할이 식물생리 학자들을 100년 이상 흥미롭게 만들었지만, 효소의 정제와 특성 규명 및 세포 성분에서의 활성의 위치는 최근까지 밝혀지지 않았다. 일반적으로 β -D-fructofuranosidase는 '가용성 혹은 용해성(soluble)', 즉 완충 용액으로 식물 조직에서 쉽게 추출 할 수 있고, '비가용성 혹은 불용성(insoluble)'은 고농도의 소금을 함유 한 완충 용액에서만 추출 할 수 있다. 이러한 분류(Table 1)에서, 관행적으로 pH 3.5~5.6의 범위에서 최적의 활성을 갖는 '산성' β -D-fructofuranosidase 및 pH 7.0에 가까운 최적 활성을 갖는 '중성' 또는 '알칼리' β -D-fructofuranosidase로 표현한다[1].

식물 β -D-fructofuranosidase 생화학적 특징

산성 가용성 및 산성 불용성 β -D-fructofuranosidase가 가장 일반적으로 연구되는 반면 용해성 알칼리 활성은 식물에서 비교적 빈번하게 보고 되고 있다[63]. 용해성 산성 β -D-fructofuranosidase는 다음과 같은 공통적인 특징을 갖는다. 그들은 일반적으로 분자량이 23 kDa와 68 kDa (SDS-PAGE에 의해) 사이이고 pH가 약 3.5-5.6인 모두 당화 된 단백질이다. 이들의 pI 값은 3.2에서 9.3 사이이며, 자당에 대한 Km은 0.65에서 16 mM 사이이다(Table 2).

불용성 산성 β -D-fructofuranosidase는 특징적으로 SDS-PAGE에 의한 분자량이 28kDa와 64kDa 사이의 모두 당화 된 단백질이며, pH는 약 4.0-5.0, pI는 약 9, 자당에 대한 Km은 1.2-5.5 mM이다(Table 3).

Table 1. Four different kinds of β -D-fructofuranosidase isoenzyme classified by localization and pH optimum

Types of isoenzyme	N-glycosylation	pH optimum	Localization
Soluble alkaline	No	6.5-7.8	Cytoplasm
Soluble acid	Yes	3.5-5.6	Vacuole
Insoluble alkaline	No	7.0-8.0	membrane bound?
Insoluble acid	Yes	4.0-5.3	Cell wall

Table 2. Biochemical properties of soluble acid β -D-fructofuranosidase

Sources	Mr (kDa)	pI	Km (sucrose) mM	pH optimum	Reference
Etiolated Pea seedlings	22,45	7	1.8	5.3	[24]
Citrus fruit	69		7.3	4.5-5.3	[22]
Radish seedling	48.5	4.7-7.5	5.4	5	[15]
<i>Urtica dioica</i>	58	9.3	1.2	5.5	[14]
Pea leaves			2.5	4.5	[56]
Carrot dry seed and seedling	68	3.8	5	5	[64]
Potato leaves and tubers	58	5.2	7.9	5.2	[4]
Red beet roots	65 and 46		2.1	5	[38]
Tomato fruit	52		4.35	4.5	[29]
Wheat coleoptiles	50	4	2		[68]
Sweet-pepper fruit	42			4.5	[36]
Barley leaves	64,116, 155		8.1,1.0,1.7	around 5	[44]
Lily flower buds	around 77.5		1.0, 6.4, 6.6	4.0 - 5.0	[37]
Rice	46	6	6.6	4.5	[21]
<i>Arabidopsis</i>	52,54,67	4.75, 4.7, 7.65	5, 12, 5	5.5	[60]

Table 3. Biochemical properties of insoluble acid β-D-fructofuranosidase

Sources	Mr (kDa) by SDS PAGE	pI	Km (sucrose) mM	pH optimum	Reference
Etiolated Pea seedlings	66	8	5.95	4.0	[25]
Radish seedlings	48.5	6.75-9.2	3.4	5	[16]
Maize kernels	40		1.8	5	[10]
Carrot seedlings and suspension culture	63	9.9		4.6	[32]
<i>Urtica dioica</i>	58	9.3	1.2	4.5	[14]
Pea stem	64			4.2	[69]

용해성 알칼리성 β-D-fructofuranosidase는 SDS-PAGE에 의해 분자량이 60 kDa와 70 kDa 사이인 모두 비 당화 단백질이다. 분리 된 활성 효소는 일반적으로 약 6.5 내지 8.0의 최적 pH를 갖는 4량체 또는 8량체로 보고되고 있다(Table 4).

불용성 알칼리성 β-D-fructofuranosidase 활성을 기술 한 몇 가지 보고서가 있다[22, 26, 34]. 불용성 알칼리성 β-D-fructofuranosidase는 Ross 와 Davies [50] (Table 5)에 의해 Broad bean에서 먼저 정제되었으며 Lee와 Sturm [33]에 의해 당근에서 확인되고 부분적으로 특징이 보고되었다. 최근에 강낭콩의 발아 시에 경엽부에서 Kim [26]에 의해서 분리되고 정제되었다. 일부 연구자들은 용해성 산성 β-D-fructofuranosidase가 액포에 국한 되어 존재 하고 있는 것처럼 주장하지만[64], 다른 이들은 세포질의 세포액 속에 존재한다고 보고하였다[14]. 불용성 산성 β-D-fructofuranosidase는 이온 결합에 의해 세포벽에 결합 된 것으로 생각 된다[70]. 가용성 알칼리성 및 불용성 알칼리성 β-D-fructofuranosidase의 세포내 위치는 명확하지 않다(Table 1). 하지만 추출방법이 명확히 염분농도에 따라서 분리정제가 가능하여서 가용성은 세포질에 위치하고 불용성은 세포막과 연결 된 상태로 존재한다고 추정 할 수 있다. 정확한 생리적 기능은 아직 불명확하다[26].

조직학적으로 β-D-fructofuranosidase 활성을 염색하는 방

법을 사용하여 불용성 산성 β-D-fructofuranosidase는 옥수수 커널의 배젓과 화병조직에 활성이 국한된 것으로 나타났다 [10]. Immunocytochemical 기술을 사용하여, 불용성 산성 β-D-fructofuranosidase는 옥수수의 종자조직에서 배젓과 모계 세포의 정상적인 발달에 관여하는 것으로 나타났다. 또한 immunolocalization 기술을 사용하여, Faye와 Ghorbel [16]은 무 묘목을 연구하여 발아하는 경엽부와 자엽에 관련된 가용성 산성 β-D-fructofuranosidase를 발견했다. 원적외선에서 자란 묘목에서 가장 높은 β-D-fructofuranosidase 농도가 세포벽에서 나타났다. *Vicia faba* L. 종자 발달에 대한 연구에서, 불용성 산성 β-D-fructofuranosidase가 자당이 필요한 사이트로 알려진 종피 세포의 얇은 벽에서 발견되었다. 높은 β-D-fructofuranosidase 활성은 보다 높은 hexose 농도와 관련이 있다[69].

최근에는 이 효소의 유전자를 확인하기 위하여 *Arabidopsis* 와 벼의 β-D-fructofuranosidase 유전자의 알려진 단백질 서열의 정보를 사용하여 여러 식물 게놈 데이터베이스(Phytozome v. 9.1)에 대해 BLASTP 검색을 수행했다. 피자식물의 쌍자엽 식물군에 *Medicago truncatula*, *V. vinifera*, *Malus x domestica*, *Glycine max*와 *Citrus sinensis* 및 단자엽식물 여러 군에서 그리고 포프라 나무등 10 종의 다른 식물 중에서 β-D-fructofuranosidase 유전자를 동정했다. 그 결과 유전자의 수를

Table 4. Biochemical properties of soluble alkaline β-D-fructofuranosidase

Sources	Mr (kDa) by SDS PAGE	pI	Km (sucrose) mM	pH optima	Reference
Etiolated Pea seedlings	30(120) *	5.7	41.4	7.3	[24]
Citrus fruit	(200) *		35.6	7.2- 7.4	[22]
Soybean nodules			10	7.6	[39]
Pea leaves			42	7.3	[56]
Soybean hypocotyls	58 (240) *		10	7	[6]
Chicory roots	65 (260) *		10 - 20	7-7.5	[65]
Carrot suspension culture	57 (456) *		14.3, 15.1	6.8	[33]
	126 (504) *				

* = oligomer.

Table 5. Biochemical properties of insoluble alkaline β-D-fructofuranosidase

Sources	Mr (kDa) by SDS PAGE	pI	Km (sucrose) mM	pH optima	Reference
Broad bean cotyledons	53.4(238) non-glycosylated	5.2	10	7.4	[50]
Etiolated pea seedling	20, non-glycosylated	7	13	6.8	[26]

Table 6. Numbers of β -D-fructofuranosidase genes within each plant species according to transcript data [7]

Plants	Acid	Alkaline
<i>P. trichocarpa</i>	20	25
<i>A. thaliana</i>	13	13
<i>M. truncatula</i>	12	7
<i>V. vinifera</i>	8	11
<i>M. domestica</i>	8	19
<i>G. max</i>	35	23
<i>C. sinensis</i>	20	20
<i>O. sativa</i>	16	14
β . <i>distachyon</i>	15	9
<i>S. bicolor</i>	15	9
<i>Z. mays</i>	21	19
<i>P. patens</i>	16	9

Table 6에 나타냈다[7]. 많은 동위효소가 유전자상으로 존재하지만 그 생리적 현상은 여러 면에서 아직은 살펴보아야 할 과제이다.

식물 β -D-fructofuranosidase 생리적 기능

식물 성장은 무기물 및 유기물 모두의 양분 이용 가능성 및 식물 호르몬 또는 성장 조절제를 포함하는 많은 다른 요소에 의해 조절된다. 유기 영양소는 탄소와 에너지 고정에 관련된 조직에서 생성된 광합성 "공급원 혹은 산물(source)"에서 생성된 것이다. 이 시발물질의 초기 생성물은 광합성 세포에서 운반된 화합물로 생체화합물로 변환된 작은 탄수화물 분자이다. 이러한 화합물은 식물의 수송 시스템을 통해 "흡원(sinks)"이라고 불리는 비광합성 또는 성장 조직으로 운반된다. 이러한 운반 될 수 있는 화합물들 중에서, 이당류인 fructosyl glucose (sucrose, 자당)가 가장 효율적이다[2, 19].

자당 수송 중에(Fig. 2), 공급원(source)에서 흡원(sink)으로의 경로는 포도당과 과당의 유도체로의 자당의 분해(glucose와 fructose) 또는 자당의 직접적인 이동을 포함 한다[51]. 싱크 조직에서의 자당 이용은 또한 자당을 6탄당으로 분해하는 것을 포함하고 이 6 탄당 또는 생성된 6 탄당 유도체는 다양한 방법으로 식물 성장에 영향을 미친다. 그들은 호흡과 일반적으로 탄수화물 대사에서 에너지의 원천으로서 중요한 역할을 담당하여 식물 세포벽의 형성과 전분과 같은 에너지 저장 분자의 합성에 기여한다(Fig. 2). 이런 분자가 용액에 존재하는 것만으로도 세포의 신장과 식물의 성장과 관련된 팽압의 조절에 기여한다[1]. 자당의 세포 분해 과정들 중에서 β -D-fructofuranosidase가 필수적으로 필요하여 포도당과 과당으로 불가역적으로 분해를 촉매하는 뛰어난 효소이며 식물 생리적 현상에 중요한 역할을 담당한다.

식물 성장 및 발달에서 β -D-fructofuranosidase의 참여
 β -D-fructofuranosidase의 4 가지 그룹의 존재와 각 그룹

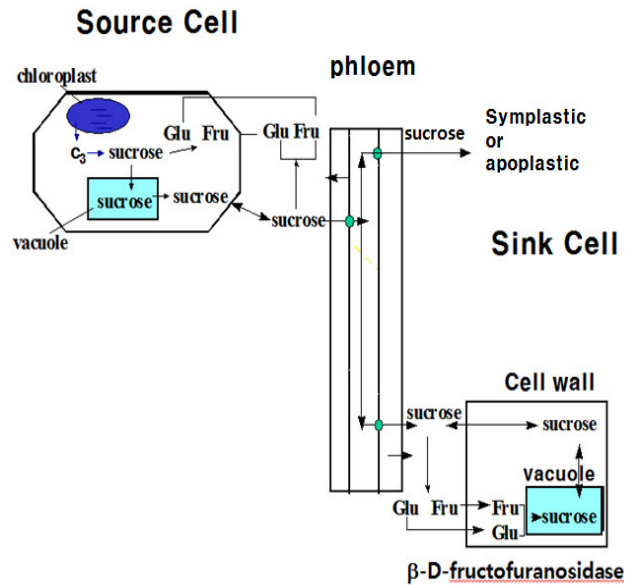


Fig. 2. Sucrose partitioning from source leaf via the phloem to sink organs in plants and Carbon metabolism in a plant sink cell. Sucrose synthesized in photosynthetic leaves is translocated in phloem to stem parenchyma cells, where its post-phloem transfer can follow two paths: symplastic (through plasmodesmata) and/or apoplastic (through the cell wall space). Amongst the processes of cellular breakdown of sucrose, β -D-fructofuranosidase is the essentially dominant enzyme catalyzing irreversible hydrolysis of sucrose to glucose and fructose

내에서 하나 이상의 "동위 효소"의 존재 가능성은 식물 성장과 발달에 대한 β -D-fructofuranosidase의 역할이 얼마나 중요한가를 알려준다. 이 총설의 목적은 자당 수송, 세포 분열 및 확장, 저장 기관 발달 및 식물 조직의 상처와 병원균에 대한 반응을 검토하여 β -D-fructofuranosidase의 생리적 역할을 보고하는데 있다.

자당의 이동

자당은 원형질연락사(plasmodesmata) 및 / 또는 세포벽과 세포 간 공간을 따라 "apoplastically"를 통해 운반하거나 혹은 세포에서 세포로 "symplastically" 이동할 수 있다. 자당은 잎 엽육 세포에서 합성된다. 자당은 적극적으로 자당-양성자 운반체 [35]에 의해 사부조직으로 운반되는 세포벽으로 옮겨지거나 plasmodesmata를 통해 사부로 이동할 수 있다(Fig. 2). 식물체내에서 자당의 움직임은 질량 흐름(mass flow)을 요구한다. 싱크 조직에서 주로 가용성 알칼리 β -D-fructofuranosidase에 의한 자당의 이화 작용은 이 질량 흐름(압류이론)을 유도하는 데 필요한 농도구배를 생성한다. 세포벽 구조에 결합된 불용성 산성 β -D-fructofuranosidase는 반복적으로 "apoplastically"이동을 유도하기 위한 농도구배를 생성하는 기능이 있다고 제안되어 왔다[49, 55].

β-D-fructofuranosidase의 활성과 세포 분열을 통한 성장 및 확장

초기 연구에서 Robinson과 Brown [48]은 팥 뿌리 끝의 세포 확장 영역을 통해 용해성 β-D-fructofuranosidase 활성이 증가하고 세포가 분화됨에 따라 감소함을 보였다. Ricardo와 ap Rees [47]는 신장 기관과 어린 묘목의 세포를 신장시키는데 있어서 가용성 산성 β-D-fructofuranosidase의 높은 활성을 보였다. 불용성 산성 β-D-fructofuranosidase는 잎을 신장 시키는데 높은 활성을 나타낸다[13]. *Phaseolus vulgaris*에서, 주요 자당 - 가수 분해 효소는 잎 성장의 초기 단계에서 가장 활성인 효소는 가용성 산성 β-D-fructofuranosidase 이다[40]. 자몽에서 잎이 발달하는 동안 어린 잎은 용해도가 높은 산성 β-D-fructofuranosidase의 활성을 가지지만 성숙한 잎의 주된 β-D-fructofuranosidase 활성은 가용성 알칼리 β-D-fructofuranosidase이다[53].

β-D-fructofuranosidase 활성과 저장 기관 및 조직의 발달 사이의 관계

과일, 뿌리 또는 괴경과 같은 저장 기관의 초기 성장 단계에서는 가용성 산성 β-D-fructofuranosidase의 활성이 상대적으로 높다. 이러한 기관의 발생 동안 β-D-fructofuranosidase 활성은 자당 축적으로 감소한다. 이러한 전환은 사탕무 뿌리[20], 당근[47], 감귤류[22]에서 보고되었다. Yelle 등[71]은 두 종류의 토마토 *Lycopersicon*을 비교했다. 재배용 토마토(*Lycopersicon esculentum*)는 포도당과 과당 축적에 기여하며 과일이 발달 과정에서 높은 β-D-fructofuranosidase 활성을 가지고 있다. 두 번째 종인 *Lycopersicon chmielewskii*는 과일 발달 과정에서 자당을 축적한다. 이것은 산성 β-D-fructofuranosidase 활성의 수준이 크게 감소된 것과 관련이 있다. β-D-fructofuranosidase 활성에 대한 연구를 β-D-fructofuranosidase 유전자 발현에 대한 연구로 확대하자 Elliot 등[11]은 sucrose 축적 *L. chmielewskii*의 열매에서 산성 β-D-fructofuranosidase 유전자가 "전사가 침묵"함으로 입증했다. muskmelon 열매의 중엽에서 산성과 중성 β-D-fructofuranosidase의 활성은 자당의 축적과 동시에 과일의 성숙과 함께 감소했다. muskmelon 중성 β-D-fructofuranosidase의 활성은 미성숙 muskmelon (*Cucumis melo L. cv. Prince*) 과일의 속에서 상대적으로 높다[45].

딸기과일에서는 과일 발달 과정에서 설탕 함량이 증가한다. Hexose 농도는 자당보다 상대적으로 높다. 수용성 산성 β-D-fructofuranosidase의 활성이 발달 초기에 증가 하였지만 가용성 및 불용성 β-D-fructofuranosidase의 활성은 과일 발달 동안 감소하였다[46]. 자몽 과일의 발달에 대한 상세한 연구에서, 자당 대사 효소(β-D-fructofuranosidase, sucrose synthase, sucrose phosphate synthase)의 활성은 수송 과일(혈관 덩어리 + 과일 세그먼트 표피)과 발육중인 과일의 싱크 조직에서 측정되었다. sucrose synthase 활성은 주스 주머니가 발생함에 따라 수송 조직 내 모든 다른 자당 대사 효소의 활성보다 상대적으로 높았다. Sucrose phosphate synthase와 alkaline β-D-fructofuranosidase는 주스당 발달의 중간 단계에서 가장 활동적인 효소였다. 용해성 산성 β-D-fructofuranosidase는 후기 단계에서 가장 활성이 있다[34].

β-D-fructofuranosidase 활성과 식물방어 반응의 관계

β-D-fructofuranosidase 활성은 식물의 스트레스와 감염에 반응함에 따라 변할 것으로 예상된다. 식물이 병원체 또는 상처에 의한 오염과 같은 스트레스를 받을 때 그들은 복잡한 방어 메커니즘을 통해 반응하기 때문이다. 많은 연구 그룹이 스트레스 하에서 β-D-fructofuranosidase 활성의 변화, 특히 감염에 의한 스트레스를 보고했다[30, 56]. 주요 요인으로 자당은 광합성 과정에서 생산되어 식물전체로 옮겨진 탄소의 주요 형태이며, 사부를 통해 공급원에서 싱크 조직으로 옮겨진다. 이 이당류는 신호 분자로서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 식물의 많은 대사 과정에 관여한다. 식물 성장 및 발달에 필수적인 자당은 병원균에 대한 식물의 면역 반응을 활성화시킴으로써 식물 방어에 주요기능을 담당한다. 감염 과정에서 병원균은 자신의 필요에 따라 식물 당분을 재분배하여 식물이 당 함량을 수정하고 방어 반응을 일으키게 한다. 자당을 가수 분해하고 탄수화물을 분열시키는 효소 중에 β-D-fructofuranosidase는 식물 병원체 상호 작용 동안 영향을 받는 것으로 보고되었다(Table 7). 식물 방어 반응의 확립에 있어서의 역전사의 역할에 관한 최근의 강조점은 식물 - 병원체(박테리아) 상호 작용에서의 당이 신호 기작에 보다 복잡한 조절을 한다고 보여 진다[61].

우리 실험실에서 보고 된 연구에서, Zhang 등[72]은 물리적

Table 7. List of plant - bacteria interaction researches responding to β-D-fructofuranosidase modulations

Plant	β-D-fructofuranosidase	Feature	References
Etiolated pea seedlings	Insoluble acid	Induction	[27]
Carrot	Insoluble acid	Induction of PAL	[57]
<i>Ricinus communis</i>	Insoluble acid, soluble acid	Change in sugar content, ABA synthesis	[68]
Tomato	Insoluble acid	Change in sugar content	[28]
Pepper	Insoluble acid	Induction of defense response PR-Q	[54]
Grapevine	Insoluble acid	Callose deposition, modulation of SUC genes	[52]
Rice	Insoluble acid	Change in sugar content, callose deposition,	[59]

상처에 대한 반응으로 잎, 줄기 및 뿌리 조직에서 불용성 β -D-fructofuranosidase mRNA의 유도를 기술했다. 그리고 조직학적 연구와 면역조직화적 연구에서 사부 조직 부근에 β -D-fructofuranosidase가 증가하는 것이 입증되어서 병원균 방어 작용에 결정적으로 역할을 한다는 결과가 발표되었다[27].

결론

β -D-fructofuranosidase가 효모에서 기능처럼 단순히 자당을 분해하는 효소로 작용하여 식물체내에 광합성 산물을 분해하여서 탄소 분자를 에너지원으로 공급하는 역할을 수행하는 것이 일차적인 기능 일 수 있다. 하지만 식물체내에 동일한 기능을 하는 효소가 존재하기 때문에 생리적 기능은 다르다고 많은 학자들은 주장한다[7]. 존재하는 형태가 특징적인 4 범주에서 다르며, 그 각각의 유전자가 다양하게 존재한다. 또 식물 종류에 따라, 기관에 따라, 조직에 따라서 발달과 성장에서 다양한 발현양상과 생리적기능이 나타난다. 세포 분열을 통한 성장 및 확장, 저장 기관 및 조직의 발달 사이의 관계, 식물방어 반응의 관계 등에서 β -D-fructofuranosidase 활성이 다양하기에 정확한 생리적 기능을 밝히기 위해서는 더 많은 연구를 종합해 보는 것이 필요 할 것으로 사료된다.

References

1. ap Rees, T. 1988. Hexose Phosphate Metabolism by Non-photosynthetic Tissues of Higher Plants. In: The biochemistry of Plants: *Carbohydrates*. Vol. **14**, Academic Press, 1-84.
2. Bihmidine, S., Hunter, C. T. III., Johns, C. E., Koch, K. E. and Braun, D. M. 2013. Regulation of assimilate import into sink organs: update on molecular drivers of sink strength. *Front. Plant Sci.* **4**, 177.
3. burch, L. R., Davies, H. V., Cuthbert, E. M., Machray, G. C., Hedley, P. and Waugh, R. 1992. Purification of soluble invertase from potato. *Phytochemistry* **31**, 1901-1904.
4. burch, L. R., Davies, H. V., Ross, H. A., Machray, G. C., Hedley, P. and Waugh, R. 1994. Processing of a 58,000 MW invertase from potato tubers. *Phytochemistry* **35**, 579-582.
5. Cardin, C. E., Leloir, L. F. and Chiriboga, J. 1955. The biosynthesis of sucrose. *J. Biol. Chem.* **214**, 149-155.
6. Chen, J. Q. and black, C. C. 1992. biochemical and immunological properties of alkaline invertase isolated from sprouting soybean hypocotyls. *Archives Biochem. Biophys.* **295**, 61-69.
7. Chen, Z., Gao, K., Su, X., Rao, P. and An, X. 2015. Genome-wide identification of the invertase gene family in *Populus*. *PLoS One* **10**, e0138540.
8. Contesini, F. J., Figueira J. A., Kawaguti, H. Y., Fernandes, P. C. B., Carvalho, P. O., Nascimento, M. G. and Sato, H. H. 2013. Potential Applications of Carbohydrases Immobilization in the Food Industry. *Int. J. Mol. Sci.* **14**, 1335-1369.
9. Dahlqvist, A. 1984. Methods of enzymatic analysis. Vol. **4**. Verlag Chemie GmbH Weinheim 208-217.
10. Doehlert, D. C. and Felker, F. C. 1987. Characterization and distribution of invertase activity in developing maize (*Zea mays*) kernels. *Physiol. Plant.* **70**, 51-57.
11. Elliott, K. J., Butler, W. O., Dickinson, C. D., Konno, Y., Vedvick, T., Fitzmaurice, L. and Mirkov, T. E. 1993. Isolation and characterization of fruit vacuolar invertase genes from two tomato species and temporal differences in mRNA levels during fruit ripening. *Plant Mol. Biol.* **21**, 515-524.
12. Esmon, P. C., Esmon, B. E., Schauer, I. E., Yaylor, A. and Schekman, R. 1987. Structure, assembly, and secretion of octameric invertase. *J. Biol. Chem.* **262**, 4387-4394.
13. Eschrich, W. 1980. Free space invertase, its possible roles in phloem unloading. *Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd.* **93**, 363-378.
14. Fahrendorf, T. and Beck, E. 1990. Cytosolic and cell-wall-bound acid invertases from leaves of *Urtica dioica*: a comparison. *Planta* **180**, 237-244.
15. Faye, L., berjonneau, C. and Rollin, P. 1981. Studies on β -fructosidase from radish seedlings. I. Purification and partial characterization. *Plant Sci. Lett.* **22**, 77-87.
16. Faye, L. and Ghorbel, A. 1983. Studies on β -fructosidase from radish seedlings. II. biochemical and immuno-cytochemical evidence for cell wall-bound forms *in vivo*. *Plant Sci. Lett.* **29**, 33-48.
17. Fischer, G. and Schmid, F. X. 1990. The mechanism of protein folding. Implications of *in vitro* refolding models for *de novo* protein folding and translocation in the cell. *Biochemistry* **29**, 2205-2212.
18. Florkin, M. and Stotz, E. M. 1973. Enzyme Nomenclature. *Comprehensive biochem.* Vol **13**. Amsterdam. Elsevier.
19. Frommer, W. b. and Sonnewald, U. 1995. Molecular analysis of carbon partitioning in *solanaceous* species. *J. Exp. Bot.* **46**, 587-607.
20. Giaquinta, R. 1979. Sucrose translocation and storage in the sugar beet. *Plant Physiol.* **63**, 828-832.
21. Isla, M. I., Salerno, G., Points, H., Vattuone, M. A. and Sampietro, A. R. 1995. Purification and properties of the soluble acid invertase from *Oryza sativa*. *Phytochemistry* **38**, 321-325.
22. Kato, T. and Kubota, S. 1978. Properties of invertases in sugar storage tissues of citrus fruit and changes in their activities during maturation. *Physiol. Plant.* **42**, 67-72.
23. Kern, G., Schulke, N., Schmid, F. X. and Jaenicke, R. 1992. Stability, quaternary structure, and folding of internal, external, and core-glycosylated invertase from yeast. *Protein Sci.* **1**, 120-131.
24. Kim, D., Park, S., Chung, Y., Park, J., Lee, S. and Lee, T. K. 2010. biochemical characterization of soluble acid and alkaline invertases from shoots of etiolated pea seedlings. *J. Integr. Plant Biol.* **52**, 536-548.
25. Kim, D., Lee, G., Chang, M., Park, J., Chung, Y., Lee, S. and Lee, T. K. 2011. Purification and biochemical characterization of insoluble acid invertase (INAC-INV) from pea seedlings. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 11228-11233.
26. Kim, D. 2015. Characterization of neutral invertase from fast growing pea (*Pisum sativum* L.) seedlings after Gibberellic Acid (GA) treatment. *J. Life Sci.* **25**, 1021-1026.

27. Kim, D. and Lee, T. K. 2015. Immunolocalization of wound-inducible insoluble acid invertases in pea (*Pisum sativum* L.). *J. Kor. Acad.-Ind. Coop. Soc.* **16**, 6425-6431
28. Kocal, N., Sonnewald, U. and Sonnewald, S. 2008. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. *Plant Physiol.* **148**, 1523-1536.
29. Konno, Y., Vedvick, T., Fitzmaurice, L. and Mirkov, T. E. 1993. Purification, characterization, and subcellular localization of soluble invertase from tomato fruit. *J. Plant Physiol.* **141**, 385-392.
30. Krishnan, H. B. and Pueppke, S. G. 1988. Invertases from rust-infected wheat leaves. *J. Plant Physiol.* **133**, 336-339.
31. Lampen, J. O. 1971. In the Enzymes. Vol. 5. New York, Academic Press, pps 291-305.
32. Lauriere, C., Lauriere, M., Sturm, A., Faye, L. and Chrispeels, M. J. 1988. Characterization of β -fructosidase, an extracellular glycoprotein of carrot cells. *Biochimie* **70**, 1483-1491.
33. Lee, H. and Sturm, A. 1996. Purification and characterization of neutral and alkaline invertase from carrot. *Plant Physiol.* **112**, 1513-1522
34. Lowell, C. A., Tomlinson, P. T. and Koch, K. E. 1989. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissues and adjacent sink structures in developing citrus fruit. *Plant Physiol.* **90**, 1394-1402.
35. Madore, M. A. and Lucas, W. J. 1995. Carbon partitioning and source-sink interactions in plants. Current topics in plant physiology: *Amer. Soc. Plant Physiol. Ser.* **13**, 1-287.
36. Michaud, D., Seye, A., Driouich, A. and Faye, L. 1993. Purification and partial characterization of an acid β -fructosidase from sweet-pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit. *Planta* **194**, 308-315.
37. Miller, W. B. and Ranwala, A. P. 1994. Characterization and localization of three soluble invertase forms from *Lilium longiflorum* flower buds. *Physiol. Planta.* **92**, 247-253.
38. Milling, R. J., Hall, J. L. and Leigh, R. A. 1993. Purification of an acid invertase from washed discs of storage roots of red beet (*Beta vulgaris* L.). *J. Exp. Bot.* **268**, 1679-1686.
39. Morell, M. and Copeland, L. 1984. Enzymes of sucrose breakdown in soybean nodules. *Plant Physiol.* **74**, 1030-1034.
40. Morris, D. A. and Arthur, E. D. 1984. Invertase and auxin-induced elongation in internodal segments of *Phaseolus vulgaris*. *Phytochemistry* **23**, 2163-2167.
41. Nakajima, H., Hirata, A., Ogawa, Y., Yonehara, T., Yoda, K. and Yamasaki, M. 1991. A cytoskeleton-related gene, USO1, is required for intracellular protein transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* **113**, 245-260.
42. Neuberger, C. and Mandl, I. 1960. Invertase. In: The Enzymes. Vol. 4. (Eds: Sumner, J.B., Myrback, K.). New York. Academic Press.
43. Neumann, N. P. and Lampen, J. O. 1967. Purification and properties of yeast invertase. *Biochemistry* **6**, 468-475.
44. Obenland, D. M., Simmen, U., Boller, T. and Wiemken, A. 1993. Purification and characterization of three soluble invertases from barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves. *Plant Physiol.* **101**, 1331-1339.
45. Ranwala, A. P., Iwanami, S. S. and Masuda, H. 1991. Acid and neutral invertases in the mesocarp of developing muskmelon (*Cucumis melo* L. cv Prince) fruit. *Plant Physiol.* **96**, 881-886.
46. Ranwala, A. P., Suematsu, C. and Masuda, H. 1992. Soluble and wall-bound invertases in strawberry fruit. *Plant Sci.* **84**, 59-64.
47. Ricardo, C. P. P. and ap Rees, T. 1970. Invertase activity during the development of carrot roots. *Phytochemistry* **9**, 239-247.
48. Robinson, E. and Brown, R. 1952. The development of the enzyme complement in growing root cells. *J. Exp. Bot.* **3**, 356-374
49. Roitsch, T. and Tanner, W. 1996. Cell wall invertases: bridging the gap. *Botanica Acta* **109**, 90-93.
50. Ross, H. A., McRae, D. and Davies, H. V. 1996. Sucrolytic enzyme activities in cotyledons of *Vicia faba* L.: developmental changes and purification of alkaline invertase. *Plant Physiol.* **111**, 329-338.
51. Salisbury, F. B. and Ross, C. W. 1992. *Plant Physiology*. 4th ed. Belmont, CA., Wadsworth.
52. Santi, S., De Marco, F., Polizzotto, R., Grisan, S. and Musetti, R. 2013. Recovery from stolbur disease in grapevine involves changes in sugar transport and metabolism. *Front Plant Sci.* **4**, 171.
53. Schaffer, A. A. 1986. Invertases in young and mature leaves of *Citrus sinensis*. *Phytochemistry* **25**, 2275-2277.
54. Sonnewald, S., Priller, J. P., Schuster, J., Glickmann, E., Hajirezaei, M. R. and Siebig, S. 2012. Regulation of cell wall-bound invertase in pepper leaves by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* type three effectors. *PLoS One* **7**, e51763.
55. Stitt, M. 1996. Plasmodesmata play an essential role in sucrose export from leaves: a step toward an integration of metabolic biochemistry and cell biology. *Plant Cell* **8**, 565-571.
56. Storr, T. and Hall, J. L. 1992. The effect of infection by *Erysiphe pisi* DC on acid and alkaline invertase activities and aspects of starch biochemistry in leaves of *Pisum sativum* L. *New Phytol.* **121**, 535-543.
57. Sturm, A. and Chrispeels, M. J. 1990. cDNA cloning of carrot extracellular β -fructosidase and its expression in response to wounding and bacterial infection. *Plant Cell* **2**, 1107-1119.
58. Sturm, A. 1999. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiol.* **121**, 1-8.
59. Sun, L., Yang, D. L., Kong, Y., Chen, Y., Li, X. Z., Zeng, L. J., Li, Q., Wang, E. T. and He, Z. H. 2014. Sugar homeostasis mediated by cell wall invertase GRAIN INCOMPLETE FILLING 1 (GIF1) plays a role in pre-existing and induced defense in rice. *Mol. Plant. Pathol.* **15**, 161-173.
60. Tang, X., Ruffner, H., Scholes, J. D. and Rolfe, S. A. 1996. Purification and characterization of soluble invertases from leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* **198**, 17-23.
61. Tauzin, A. S. and Giardina, T. 2014. Sucrose and invertases,

- a part of the plant defense response to the biotic stresses. *Front. Plant Sci.* **5**, 293.
62. Tummler, K, Lubitz, T., Schelker, M. and Klipp, E. 2014. New types of experimental data shape the use of enzyme kinetics for dynamic network modeling. *FEBS J.* **281**, 549-571.
 63. Tymowska-LaLanne, Z. and Kreis, M. 1998. The plant invertases: physiology, biochemistry and molecular biology. *Adv. Bot. Res.* **28**, 71-117.
 64. Unger, A., Hofsteenge, J. and Sturm, A. 1992. Purification and characterization of a soluble β -fructofuranosidase from *Daucus carota*. *Eur. J. Biochem.* **204**, 915-921.
 65. Van den Ende, W. and Van Laere, A. 1995. Purification and properties of a neutral invertase from the roots of *Cichorium intybus*. *Physiol. Planta.* **93**, 241-248.
 66. Wachter, R., Langhans, M., Aloni, R., Gotz, S., Weilmunster, A. and Koops, A. 2003. Vascularization, high-volume solution flow, and localized roles for enzymes of sucrose metabolism during tumorigenesis by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.* **133**, 1024-1037.
 67. Wang, J., Nayak, S., Koch, K. and Ming, R. 2013. Carbon partitioning in sugarcane (*Saccharum* species). *Front. Plant Sci.* **4**, 201.
 68. Walker, R. P. and Pollock, C. J. 1993. The purification and characterization of soluble acid invertase from coleoptiles of wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Avalon). *J. Exp. Bot.* **44**, 1029-1037.
 69. Weßer, H., Borisjuk, L., Heim, U., Buchner, P. and Wobus, U. 1995. Seed coat-associated invertases of fava bean control both unloading and storage functions. Cloning of cDNAs and cell type-specific expression. *Plant Cell* **7**, 1835-1846.
 70. Wu, L., Mitchell, J. P., Cohn, N. S. and Kaufman, P. B. 1993. Gibberellin (GA3) enhances cell wall invertase activity and mRNA levels in elongating dwarf pea (*Pisum sativum*) shoots. *Int. J. Plant Sci.* **154**, 280-289.
 71. Yelle, S., Chetelat, R. T., Dorais, M., DeVerna, J. W. and Bennett, A. 1991. Sink metabolism in tomato fruit. *Plant Physiol.* **95**, 1026-1035.
 72. Zhang, L., Cohn, N. S. and Mitchell, J. P. 1996. Induction of a pea cell-wall invertase gene by wounding and its localized expression in phloem. *Plant Physiol.* **112**, 1111-1117.

초록 : 식물 β -D-fructofuranosidase의 화학적 성질과 생리적 기능

김동균*

(신라대학교 생명과학과)

역사적인 관점에서 β -D-fructofuranosidase (EC 3.2.1.26)는 1860년 프랑스 생물학자 Berthelot에 의해서 발견된 중요한 효소이며, 효소학을 연구하기 위해 처음 사용되었다. β -D-fructofuranosidase는 sucrose가 D-glucose와 D-fructose로 가수 분해되는 것을 촉매 한다. 4 종류의 생화학 하위 그룹으로 나누어지는 β -D-fructofuranosidase가 식물에서 조사되었다. 정제 방법에 의해서 액상(수용성 산성), 세포질(가용성 알칼리), 막 결합(불용성 알칼리) 그리고 세포벽 결합(불용성 산성) β -D-fructofuranosidase가 있다. 그들의 생화학적 특징은 뚜렷하다. 그것은 그 효소가 다른 유전자 산물일 가능성을 제시한다. 식물에서 자당을 분배하기 위한 이들 효소의 기여도는 위치한 장소와 상관 관계가 있는 것으로 보인다. 식물의 다양한 발달 단계 그리고 다양한 부분에서, 조직내의 세포를 발달시키는 공통적인 위치의 장소에 모든 동위효소들이 영양분 수송과 밀접하게 관련 되어 있음을 제시한다. β -D-fructofuranosidase는 과일, 잎, 뿌리가 발달, 조직의 성숙 과 관련되어 가장 빈번하게 발견되었다. 그리고 β -D-fructofuranosidase 활성은 세포 분열, 저장 기관 및 조직의 발달, 식물 방어 반응의 관계를 통해 성장과 확장 사이의 관계에 따라 그 활성의 차이가 다양하다. 명확한 생리 기능을 파악하기 위해서는 더 많은 연구를 종합할 필요가 있다.