

# 쓴메밀 유식물에서 비 생물학적 스트레스에 의한 D-chiro-inositol과 D-pinitol의 함량 증가

안철현 · 박훤범\*

수원대학교 생명공학과

Received August 14, 2009 / Accepted September 3, 2009

## Increase of the D-chiro-inositol and D-Pinitol Contents by Abiotic Stress in the Buckwheat Seedlings.

Chul Hyun Ahn and Phun Bum Park\*. Department of Bioscience and Biotechnology, University of Suwon, Hwasong 445-743, Korea - D-chiro-Inositol, which is the isomer of myo-inositol, is a well known drug for the treatment of type II diabetes. The methylated form of D-chiro-inositol, D-pinitol and D-chiro-inositol are synthesized when the plants are exposed to the abiotic stresses such as drought, salinity and low temperature as osmoprotectants. In soybean, myo-inositol is converted to ononitol by O-methyltransferase, and ononitol is converted to D-pinitol by ononitol epimerase and finally converted to D-chiro-inositol by demethylase. However there have been some reports that in buckwheat, myo-inositol can be converted to D-chiro-inositol directly. This study was conducted to determine the changes of soluble cyclitols in buckwheat seedlings after exposure to salt and drought stresses by GC-FID. The results indicated that myo-inositol may be the precursor of D-chiro-inositol biosynthesis.

**Key words :** D-chiro-inositol, D-pinitol, abiotic stress, buckwheat

## 서 론

식물이 받는 스트레스는 크게 생물학적(biotic) 스트레스와 비 생물학적(abiotic) 스트레스로 구분된다. 생물학적 스트레스는 다른 생물체에 의해서 일어나는 스트레스이고 비 생물학적 스트레스는 가뭄(drought), 염분(salinity), 저온(cold), 중금속(heavy metal)등과 같은 물리적 또는 화학적 요인에 의한 스트레스이다[2,17]. 식물이 이와 같은 스트레스를 받게 되면 세포 내 유전자 발현의 변화를 포함한 대사 작용을 유도적으로 변화시켜 스트레스에 대처하게 된다. 비 생물학적 스트레스 중에서 가뭄, 염분과 같은 삼투 스트레스(osmotic stress)는 식물의 성장과 발달에 심각한 해를 입히며 특히 작물의 경우에는 생산성에 큰 영향을 미친다[1,34]. 전 세계 경작 가능한 토양의 약 20%와 관계토양의 약 40% 이상이 염의 축적에 의한 영향을 받고 있는 것으로 알려져 있다[2]. 식물은 고농도의 염 환경에 자랄 수 있는 능력에 따라 비 내염성 식물(glycophytes)과 내염성 식물(halophytes)로 나누어지는데[4] 대표적인 내염성 식물인 *Mesembryanthemum crystallinum*의 경우 바닷물의 2배 이상의 염 농도에서도 성장이 가능하지만 재배 농작물을 포함한 대부분의 일반적인 식물들은 비 내염성 식물로써 높은 농도의 염에 민감하게 반응하여 서서히 고사하게 된다.

식물이 비 생물학적 스트레스(염과 가뭄)에 노출되게 되면 세포 내 삼투압의 불균형(osmotic imbalance)과 이온농도의 불균형(ionic imbalance)이 일어나게 되며 이로 인한 2차

스트레스로서 산화 스트레스, 세포막 해체, 대사장애, 광합성 장애 등이 유발되고 스트레스 강도가 증가하여 식물의 적응능력을 넘어서면 식물은 서서히 죽게 된다[19,33]. 일반적으로 식물이 비 생물학적 스트레스에 적응하는 방법으로는 이온 항상성 유지가 있다[6,18]. 식물이 염에 의한 스트레스를 받게 되면 NaCl에 의해 세포내에 존재하는  $K^+$ 와  $Ca^{2+}$ 의 불균형이 일어나게 된다. 세포 외부에 존재하는  $Na^+$ 은 세포에 필수적인  $K^+$ 의 세포내로의 유입에 영향을 주어  $K^+$ 의 흡수를 저해하게 된다. 또한 세포내의  $Ca^{2+}$ 도 증가되어 스트레스 적응에 필요한 신호전달 기작을 시작하게 된다. 세포막에서의  $Na^+$  비율조정은  $H^+$  translocating ATPase, pyrophosphatase,  $Ca^{2+}$ -ATPase, secondary active transporters와 channel 등과 같은 세포막에 존재하는 transportor 단백질에 의하여 조절되어 진다[6,18,29]. 또 다른 적응 방법은 외부의 삼투압 변화에 의하여 반응하는 compatible solute라고 하는 삼투물질(osmolyte)을 세포내 축적하는 것이다[14,31,32,33]. 이러한 삼투물질로는 자당, 과당과 같은 당류, glycerol, methylated inositol 등과 같은 sugar alcohol류, trehalose, raffinose, fructans등과 같은 복합 당류, 그리고 glycine betaine, dimethyl sulfonium propionate (DMSP), proline, ectoine 등과 같은 전하 대사산물이 있다[6]. 이러한 삼투물질의 세포내 축적은 세포내 정상적인 대사과정을 저해하지 않고 세포내 삼투압을 조절하여 비 생물학적 스트레스 물의 균형을 유지시키는 역할을 하고 있다[3,4,17]. 또한 이들은 친수성이며 단백질 혹은 세포막에 결합하고 있는 물과 치환이 가능하여 삼투보호물질(osmoprotectant)로써 작용한다[19,25,26]. 이들 삼투물질이 세포 내에 다량으로 축적되게 되면 효소의 열역학적인 안정성을 증가시켜  $Na^+$ 이 효

### \*Corresponding author

Tel : +82-31-220-2236, Fax : +82-31-220-2519

E-mail : pbpark@suwon.ac.kr

소활성을 저해하는 것을 막아 주는 역할을 하고 있다. 삼투 물질의 합성경로는 세포의 기초대사 경로와 연결되어 있으며 특정한 삼투물질을 합성하는데 필요한 효소의 유전자들은 스트레스에 의하여 그 유전자의 전사가 유도되어 진다고 보고된바 있다[15,20,31,33].

삼투물질인 *D-chiro-inositol*과 *D-chiro-inositol*의 methylated form인 *D-pinitol*은 식물에서 비 생물학적 스트레스에 의해 생성되고 축적되어 식물체에 스트레스에 대한 저항성을 부여하지만 인체에서의 작용은 식물에서와는 다른 기능인 혈당조절에 관여하는 것으로 밝혀지고 있다[7,11,22-24]. 인슐린 비의존성 당뇨병은 유전 및 환경 요인에 의하여 대체로 성인에게서 나타나며 당뇨병 환자의 80~90%가 인슐린 비의존성 당뇨병 환자이다[30]. 인슐린 저항성이 제 2형 당뇨병의 발병 원인으로 알려져 있어 인슐린 저항성을 개선한다면 당뇨병 예방 및 치료 가능성이 있을 것으로 사료되는 바 이에 대한 많은 연구가 진행되고 있는 실정이다[7,11]. 현재까지 알려진 인슐린 저항성 개선을 위한 방법으로는 식이요법과 운동, 메트포르민이나 thiazolidinedione계열의 약제 등을 사용하고 있다[21]. 최근 *D-chiro-inositol* 및 *D-pinitol* 이 체내 당 대사를 조절하는 능력을 가진다는 연구결과가 발표되었으며 *D-chiro-inositol*의 섭취로 인하여 혈당강하효과가 나타나는 것이 확인 되었다[13,22]. 작용기작으로는 *D-chiro-inositol*에서 유도되는 inositol phosphoglycan이 인슐린 작용에 잠재적으로 중요한 postreceptor mediator (인슐린 receptor에서 신호를 전달한 후 세포 내로의 downstream 신호전달에 관여하는 신호전달 중재자)로서, 생리적 농도의 인슐린에 반응하여 빠르게 생성되며 *in vivo*에서 인슐린과 유사한 효과를 나타낸다고 보고된 바 있다[7,12,21]. 이러한 결과들은 *D-chiro-inositol*이 당뇨병 전증(prediabetic)환자 및 인슐린 저항성 당뇨병에 걸린 환자의 치료에 탁월한 효과가 있을 것으로 사료되는 바이다. 위와 같이 기능을 하는 *D-chiro-inositol*과 *D-pinitol*이 식물체에서 합성경로는 다음과 같다(Fig. 6A). Methylation 과정은 ice plant와 대두에서 밝혀졌고[15,19,31], 이에 관여하는 *myo-inositol* methyltransferase 유전자가 분리되었지만 ononitol에서 pinitol로의 전환에 관여하는 epimerase는 아직까지 보고된 바 없다. 그러나 쓴메밀에서는 대두와는 다르게 중간 대사산물인 ononitol과 pinitol이 생성이 되지 않으므로 *myo-inositol*이 직접 *D-chiro-inositol*로 전환되는 것으로 보고된 바 있다[16].

본 연구에서는 쓴메밀에서 *myo-inositol*이 *D-chiro-inositol*로 직접 전환된다는 사실을 증명하기 위하여 쓴메밀에 비 생물학적 스트레스를 처리하여 당뇨와 관련 된 물질임과 동시에 삼투물질인 *D-chiro-inositol*이 식물체내에 실제적으로 합성되어 증가됨을 나타내는지 확인하였고 *myo-inositol*을 직접 *D-chiro-inositol*로 전환하는 *myo-inositol* epimerase 효소가 쓴메밀에 존재한다는 중요한 사실을 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 쓴메밀 성장조건

쓴메밀(*Fagopyrum tataricum*) 종자를 암 상태 4°C에서 24시간 침윤 시킨 후 원예용 상토에 심고 식물 성장기(명 상태: 28°C 14시간, 암 상태: 20°C 10시간)에서 4주 동안 재배하였다.

### 비 생물학적 스트레스처리

4주 동안 키운 어린 쓴메밀에 모든 것을 동일 조건으로 설정하고 염(NaCl 100 mM)을 처리하여 3일 동안 매일 시료를 채취하였으며 가뭄 스트레스 처리는 염 스트레스와 동일한 조건에서 PEG 6000 10%를 어린 쓴메밀에 처리한 후 3일 동안 매일 시료를 채취하였다.

### *D-chiro-inositol*, *D-pinitol*, ononitol, *myo-inositol*의 정제시간 측정

식물에서 변화되는 cyclitols을 GC-FID로 측정하기 위해 *myo-inositol*은 Sigma (St. Louis, USA)을 사용하였으며 *D-chiro-inositol*, *D-pinitol*, ononitol은 NZP (Palmerston, New Zealand)에서 구입하여 기준 물질의 retention time 측정에 사용하였다.

### *myo-Inositol* feeding 실험

쓴메밀을 4주 동안 키운 후 뿌리 하단에서 2 cm 부분을 절단한 뒤 미리 제작 된 생장 용액(50 mM *myo-inositol*, 30 mM sucrose, 10 mM asparagine, 10 μM kinetin)과 대조구 용액(30 mM sucrose, 10 mM asparagine, 10 μM kinetin)에 넣은 후 1시간, 5일 동안 매일 시료를 채취하였다.

### *D-chiro-inositol*, *D-pinitol*, ononitol, *myo-inositol*의 측정

#### GC-FID 전처리과정

스트레스가 처리된 쓴메밀 조직을 액체질소로 급속 냉각시키고 조직 분쇄기로 마쇄하여 준비된 시료를 H<sub>2</sub>O : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (1:1, v/v) 비율로 제작한 추출 용액 40 ml에 첨가하였다. 중탕기(100°C)에서 1시간을 처리하여 시료에서 모든 cyclitols을 추출하였다. 이후 4,000 rpm 원심분리하여 cyclitols이 용출된 상등액을 취하고 이를 다시 고온 원심분리(80°C)에서 6시간 처리하여 C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH를 완전히 제거하였다. 식물조직용 nanosep 3K 필터에 용출된 상등액을 원심분리하여 남겨진 식물조직과 불순물을 제거하고 cyclitols이 녹아있는 추출 용액을 얻어냈다. 이를 저온 원심분리(-20°C)에서 24시간 동안 처리하여 수분을 완전히 제거하고 순수한 cyclitols을 얻었다. 이렇게 얻어진 각각의 시료를 작은 유리관으로 옮긴 후 잔여 수분을 완전히 제거하기 위하여 phosphorus pentoxide (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)가 담긴 유리 상자에 넣은 후 잔여 수분을 증발시켰다.

**GC-FID를 이용한 쓴메밀 D-chiro-inositol, D-pinitol, ononitol, myo-inositol 측정**

수분이 완전히 제거된 각각의 시료에 trimethylsilylimidazole : pyridine mixture (1:1, v/v) 200 µl를 처리하고 70°C 가열반응기에서 30-40분 동안 고온 반응 시킨 후 준비된 시료를 가스 크로마토그래피를 사용하여 분석하였다. 가스 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 HP-5 capillary 컬럼을 사용하였으며 split mode injector (1:50)에 반응샘플 1 µl를 삽입 하였다. 가스 크로마토그래피의 초기온도는 150°C에서 300°C까지 맞추어 총 20분을 유지시켰다. 투입구의 온도는 280°C, 검출기의 온도는 300°C에서 수행하였다.

**결 과**

**Cyclitols의 정제시간 측정**

1 mM의 D-chiro-inositol, D-pinitol, D-ononitol, myo-inositol의 정제시간을 측정하였다. 단일 피크로 측정되어 불순물이 없는 것으로 확인되었고 물질별로 정확한 정제시간과 정량분석을 위한 표면적을 얻을 수 있었다. 또한 서로 중첩되지 않고 분리되어 D-chiro-inositol, D-pinitol, D-ononitol, myo-inositol의 변화량을 정확히 측정할 수 있었다(Fig. 1).

**쓴메밀에 가뭄 스트레스 처리 시 변화되는 cyclitols 측정**

4주 동안 키운 쓴메밀에 PEG 6000 10%를 처리하여 가뭄 스트레스에 노출시킨 후 cyclitols의 변화량을 확인하였다. 스트레스 처리 후 1일이 지난 후부터 쓴메밀 잎에서 수분이 탈수되는 것을 관찰할 수 있었고 3일이 지난 후에는 거의 대부분의 수분이 탈수되는 것을 확인하였다. 가뭄 스트레스 시 식물은 삼투압 조절을 위하여 삼투물질이 축적되는데 그 중에서 sugar alcohol인 D-chiro-inositol, D-pinitol, D-ononitol, myo-inositol의 변화량을 하루 간격으로 GC-FID를 이용하여 측정하였다. 스트레스 처리 후 3일 만에 myo-inositol의 양은 약 5배 증가하였고 D-pinitol은 약 11배, D-chiro-inositol은 약 9배 증가하는 것으로 측정되었다. 대두를 이용한 실험에서는 D-pinitol 합성의 전구물질인 ononitol이 측정되었지만 쓴메밀을 이용한 실험에서는 전혀 측정되지 않았다(Fig. 2).

**쓴메밀에 염 스트레스 처리 시 변화되는 cyclitols 측정**

4주 동안 키운 쓴메밀에 100 mM NaCl를 처리하여 염 스트레스에 노출시킨 후 가뭄 스트레스 처리 시와 동일하게 D-chiro-inositol, D-pinitol, D-ononitol, myo-inositol의 변화량을 하루 간격으로 GC-FID를 이용하여 측정하였다. 쓴메밀의 상태는 가뭄 스트레스처럼 잎의 변화가 크지는 않았지만 스트레스 처리 후 3일이 지난 후 가뭄 스트레스를 처리한 것처럼 잎이 말라가기 시작했다. 스트레스 처리 후 3일 만에 myo-inositol의 양은 약 4배 증가하였고 D-pinitol은 약 4배, D-chiro-inositol은

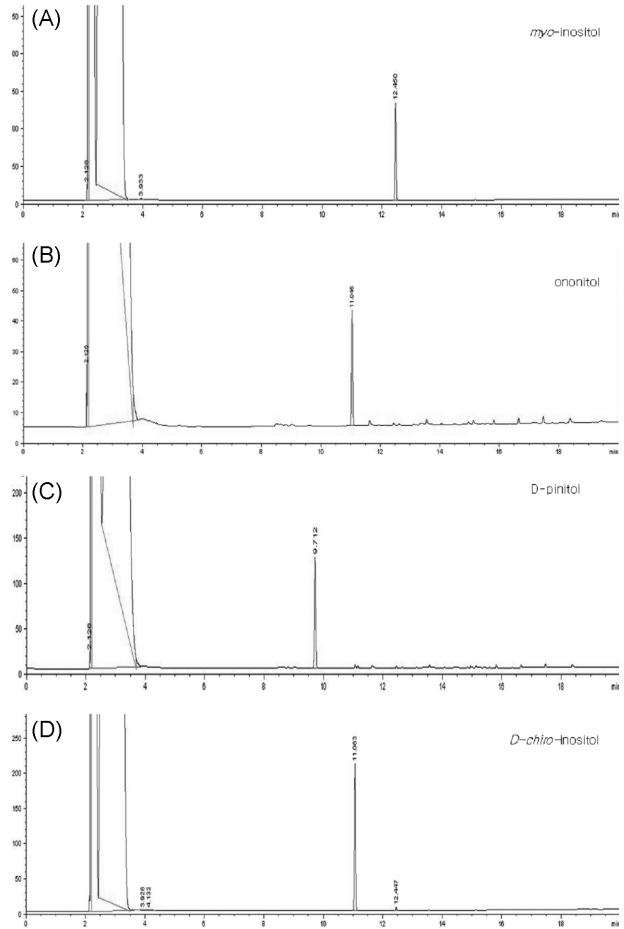


Fig. 1. Retention times of myo-inositol, D-ononitol, D-pinitol and D-chiro-inositol by GC-FID. Retention time of myo-inositol is 12.450, Retention time of D-ononitol is 11.045, Retention time of D-pinitol is 9.712, and retention time of D-chiro-inositol is 11.063.

약 4배 증가하는 것으로 측정되었다(Fig. 3). 이 경우도 가뭄 스트레스와 마찬가지로 D-pinitol의 전구물질인 ononitol은 전혀 측정되지 않았다(Fig. 3).

**쓴메밀의 explant 상태에서 myo-inositol feeding 시 cyclitols 변화 측정**

쓴메밀의 explant에 D-chiro-inositol 합성에서 기질 역할을 하는 myo-inositol을 첨가함으로써 D-chiro-inositol량이 증가됨을 나타내는지 확인하였고 다른 cyclitols의 변화량도 확인하였다(Fig. 4). 쓴메밀의 explant에 myo-inositol을 첨가하지 않은 대조군과 myo-inositol을 첨가한 실험군으로 나누어 하루 간격으로 조직을 채취 하였고 채취된 조직에서 변화되는 cyclitols의 양을 GC-FID를 이용하여 측정하였다. myo-Inositol이 첨가되지 않은 대조군에서는 cyclitols의 변화가 거의 없었으며(Fig. 4A) 외부에서 첨가된 myo-inositol은 쓴메밀 내에 흡수되어 3일 까지는 함량이 증가하였으나 그 이후로는 함량이

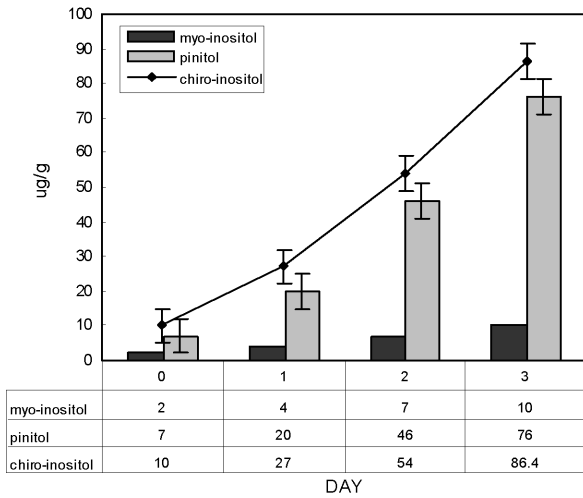


Fig. 2. Accumulation of D-chiro-inositol and D-pinitol in buckwheat seedlings exposed to the drought stress for 1 to 3 day. Four-week-old buckwheat seedlings were subjected to drought stress (PEG 6000 10%). The Amounts of *myo*-inositol, D-chiro-inositol, and D-pinitol were checked by GC-FID. Values are the mean of three separate assays and standard deviations are shown. Ononitol was not detected.

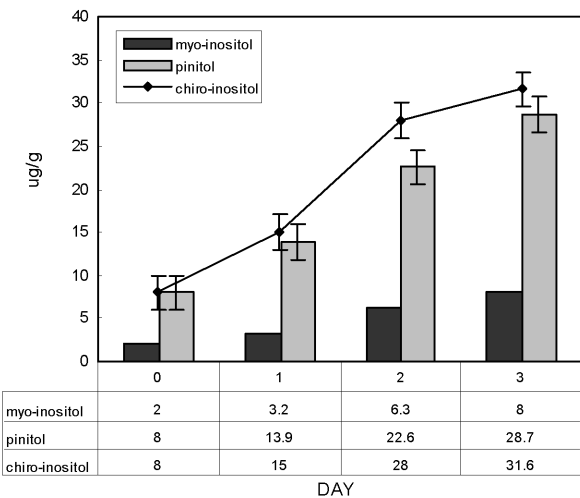


Fig. 3. Accumulation of D-chiro-inositol and D-pinitol in buckwheat seedlings exposed to the salt stress for 1 to 3 day. Four-week-old buckwheat seedlings were subjected to salt stress (NaCl 100 mM). The Amounts of *myo*-inositol, D-chiro-inositol, and D-pinitol were checked by GC-FID. Values are the mean of three separate assays and standard deviations are shown. Ononitol was not detected.

감소하는 것으로 측정되었다(Fig. 4B). D-chiro-inositol과 D-pinitol 함량은 꾸준히 증가하는 것으로 측정되었다. 이 경우에도 ononitol양은 매우 적은 양이 측정되었고 3일 이후 *myo*-inositol양이 감소함과 동시에 D-chiro-inositol양과 D-pinitol양이 동반해서 증가되는 것을 확인 하였다(Fig. 4B).

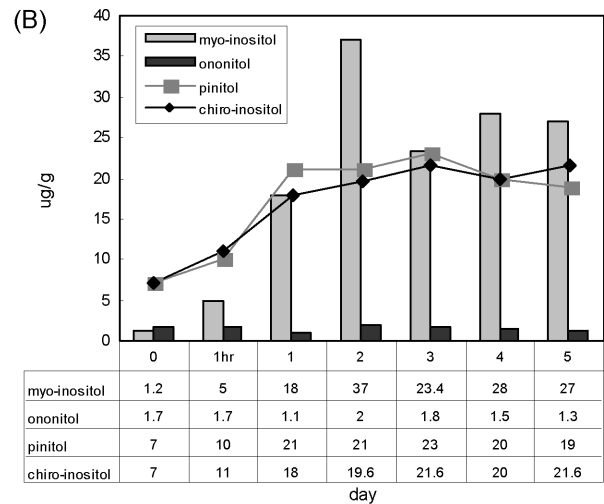
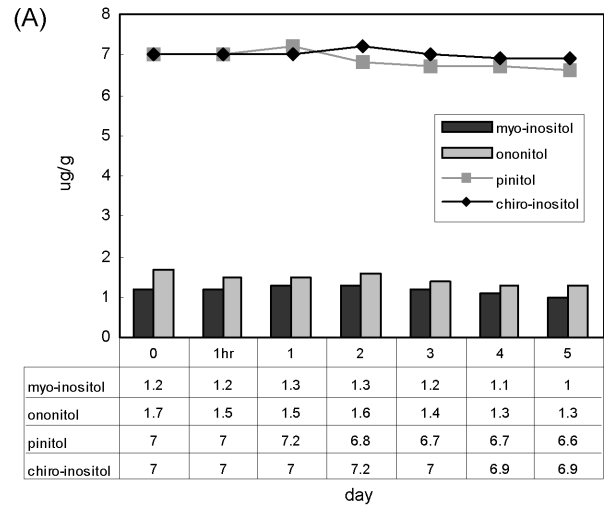


Fig. 4. D-chiro-inositol and D-pinitol accumulation in buckwheat explants fed a solution of 50 mM *myo*-inositol, 30 mM sucrose, 10 mM asparagine, 10 uM kinetin (B) or a control solution (30 mM sucrose, 10 mM asparagine, 10 uM kinetin) (A) for 1 hr to 5 day. The Amounts of *myo*-inositol, D-chiro-inositol, ononitol and D-pinitol were checked by GC-FID. Values are the mean of three separate assays.

## 고 찰

비염생식물인 대두는 비 생물학적 스트레스에 높은 저항성을 보이는 식물로서 식물체내에 많은 생리활성물질을 함유하고 있다. 이중 삼투보호물질의 기능을 하는 D-ononitol과 D-pinitol을 스트레스 상태일 때 생성하고 축적함으로써 환경에 적응하게 된다. 이들은 다량 축적되어도 식물체내에 존재하는 효소의 활성을 저해하지 않으면서 저항성을 증가시키는 유용한 물질들이다[16,29]. 대두에서 염과 가뭄스트레스를 처리하였을 때 생성되는 물질은 *myo*-inositol이 빠른 시간에 가장 먼저 증가되고 이후 증가된 *myo*-inositol이 D-ononitol로

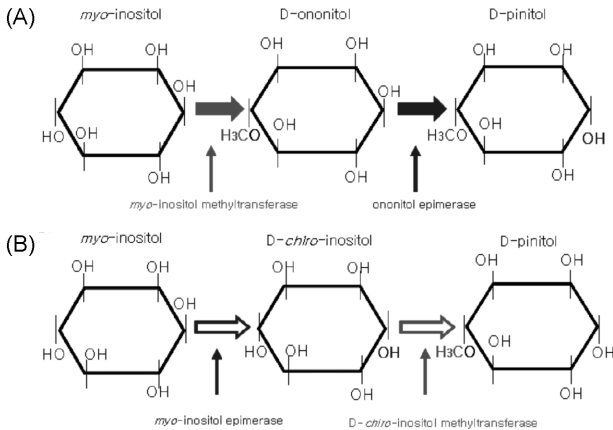


Fig. 5. *myo*-Inositol metabolism in abiotic stress condition. In soybean and ice plant, *myo*-inositol is methylated to ononitol by *myo*-inositol O-methyltransferase (IMT), and ononitol is converted to D-pinitol by ononitol epimerase (OEP) in abiotic stress condition (A). However, *myo*-inositol is directly converted to D-*chiro*-inositol by *myo*-inositol epimerase (IEP) and D-*chiro*-inositol is methylated to pinitol by D-*chiro*-inositol O-methyltransferase in buckwheat (B).

전환되고 다시 생성된 D-ononitol이 D-pinitol로 전환되었지만 D-*chiro*-inositol은 아주 적은 양이 측정되는 것으로 보고되었다[5,29]. 이 사실은 가뭄과 염 스트레스 시 *myo*-inositol methyltransferase (IMT)와 ononitol epimerase (OEP)에 의해 삼투물질인 D-ononitol과 D-pinitol이 생성됨을 확인할 수 있는 결과이다. 식물에서의 *myo*-inositol의 생성과정을 보면 glucose-6-phosphate가 *myo*-inositol-1-phosphate synthase (INPS)에 의해서 *myo*-inositol-1-phosphate로 전환되고 이는 다시 *myo*-inositol-phosphate phosphatase (IMP)에 의해 탈 인산화되어 *myo*-inositol이 생성된다. 이때 INPS 유전자의 전사가 비생물학적 스트레스에 의해 증가되어 INPS가 다량 발현됨으로써 *myo*-inositol의 합성에 중요한 역할을 한다[10,15,35]. 식물이 비 생물학적 스트레스 상태일 때 많은 양의 *myo*-inositol 합성이 이루어져 식물체내에 축적되어 *myo*-inositol 대사과정의 기질로써 사용되어진다. *myo*-Inositol 대사과정과 관련하여 분리된 IMT 유전자는 염 스트레스에 유도되는 특징을 보이고 있으며 염 스트레스 상황에서 IMT 활성에 의해 ononitol이 축적되어 식물의 저항성이 증가되어 진다는 선행 연구가 보고된 바 있다[31-33]. 스트레스 처리 시 쓴메밀에서는 D-ononitol이 측정되지 않았고 D-pinitol과 D-*chiro*-inositol이 동반 증가되는 것으로 확인되었고(Fig. 2, 3), 스트레스를 처리하지 않은 쓴메밀의 경우는 cyclitols의 함량 변화가 거의 없는 것으로 확인되었다. 이 사실로 미루어 스트레스 하에서 *myo*-inositol epimerase (IEP) 유전자의 전사가 유도되어 D-*chiro*-inositol의 양이 증가하는 것으로 사료되는 바이다. 쓴메밀의 경우 *myo*-inositol feeding 실험에서 비 생물학적 스트레스를 처리

하지 않고 단순히 *myo*-inositol만을 첨가 시켰을 때 시간이 지남에 따라 쓴메밀에서의 *myo*-inositol 함량이 증가되었고 D-pinitol과 D-*chiro*-inositol의 양이 동반 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 이 경우도 ononitol은 매우 적은 양이 측정되었고 증가되지 않는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 *myo*-inositol을 외부에서 공급해주어 식물체가 다량의 *myo*-inositol을 흡수하게 되면 IEP의 활성이 증가하든지 혹은 IEP 유전자의 전사가 증가되어 D-*chiro*-inositol이 함량이 증가된다고 사료하는 바이다(Fig. 4).

이러한 사실을 근거로 스트레스 시 쓴메밀에서는 대두와는 다른 *myo*-inositol 대사과정이 존재한다고 사료되는 바이다. 또한 D-*chiro*-inositol의 전구물질로 알려진 D-pinitol과 ononitol이 쓴메밀 종자에서는 자연적으로 합성이 안 된다는 보고가 있었고[8,9,28] 쓴메밀의 explant를 이용한 feeding 실험에서 D-pinitol을 첨가한 경우 D-*chiro*-inositol이 증가하지 않는 것으로 확인되었다[16]. 이러한 결과와 본 실험 결과로 미루어 쓴메밀에서는 비 생물학적 스트레스 처리 시 IEP에 의해 *myo*-inositol이 D-*chiro*-inositol로 전환되고 D-*chiro*-inositol methyltransferase에 의해 D-pinitol이 생성되는 것으로 추정하는 바이다(Fig. 5B).

현재 스트레스를 처리한 쓴메밀에서 *myo*-inositol epimerase를 분리하고 이를 coding하는 유전자를 분리한 후 이 유전자를 대장균이나 효모에서 대량 발현하여 bioconversion을 이용하여 *myo*-inositol에서 제 2형 당노병에 탁월한 효과를 나타내는 D-*chiro*-inositol의 대량생산 체계를 구축 중에 있다.

## 요 약

*myo*-Inositol의 이성질체인 D-*chiro*-inositol은 제 2형 당노병에 탁월한 효과를 나타내고 있다. D-*chiro*-inositol의 methylated 형태인 D-pinitol과 D-*chiro*-inositol은 식물체가 가뭄, 염, 저온과 같은 비 생물학적 스트레스에 노출되게 되면 삼투보호물질로써 합성되어 축적되어 진다. 대두에서는 *myo*-inositol O-methyltransferase에 의하여 ononitol이 합성되고 ononitol epimerase에 의하여 D-pinitol이 합성되고 최종적으로 demethylase에 의하여 D-*chiro*-inositol이 합성되어 진다. 그러나 쓴메밀에서는 *myo*-inositol이 직접적으로 D-*chiro*-inositol로 합성되어 진다는 보고가 있다. 본 실험에서는 쓴메밀에 비 생물학적 스트레스를 처리한 후 cyclitols의 변화를 측정하였다. 그 결과 쓴메밀에서는 *myo*-inositol epimerase에 의하여 *myo*-inositol이 D-*chiro*-inositol로 직접 전환된다는 사실을 확인하였다.

## 감사의 글

이 논문은 지식경제부 지역연계기술개발사업(과제번호:

70006812-2009-01)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## References

- Adams, P., J. C. Thomas, D. M. Vernon, H. Bohnert, and R. G. Jensen. 1992. Distinct cellular and organismic responses to salt stress. *Plant and Cell Physiol.* **33**, 1215-1223.
- Boyer, J. S. 1982. Plant productivity and environment. *Science* **218**, 443-448.
- Delauney, A. J. and D. P. S. Verma. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.* **4**, 215-223.
- Flowers, T. J., P. F. Troke, and A. R. Yeo. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **28**, 89-121.
- Gomes, C. I., R. L. Obendorf, and M. Horbowicz. 2005. *myo*-Inositol, *D-chiro*-inositol, and *D*-pinitol synthesis, transport, and galactoside formation in soybean explants. *Crop Sci.* **45**, 1312-1319.
- Hasegawa, P. M., R. A. Bressa, J. K. Zhu, and H. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **51**, 463-499.
- Hong, Y. and Y. Pak. 2005. Effect of *chiro*-inositol from soybean on reducing hyperglycemia and its role for nutraceutical supplement for insulin resistance. *Journal of Life Science* **15**, 197-201.
- Horbowicz, M., P. Brenac, and R. L. Obendorf. 1998. Fagopyritol B1, *O*-alpha-*D*-galactopyranosyl-(1-2)-*D-chiro*-inositol, a galactosyl cyclitol in maturing buckwheat seeds associated with desiccation tolerance. *Planta* **205**, 1-11.
- Horbowicz, M., and R. L. Obendorf. 1994. Seed desiccation tolerance and storability: Dependence on flatulence-producing oligosaccharides and cyclitols-review and survey. *Seed Sci. Res.* **4**, 385-405.
- Ishitani, M., A. L. Majumder, A. Bornhouser, C. B. Michalowski, R. G. Jensen, and H. J. Bohnert. 1996. Coordinate transcriptional induction of *myo*-inositol metabolism during environmental stress. *Plant J.* **9**, 537-548.
- Kim, J. I., J. C. Kim, M. J. Kang, M. S. Lee, J. J. Kim, and J. J. Cha. 2004. Effects of pinitol isolated from soybeans on glycaemic control and cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus: a *Eur. J. Clin. Nutr.* **59**, 456-458.
- Kennigton, A. S., C. R. Hill, J. Craig, C. Bogardus, I. Raz, H. K. Ortmeier, B. C. Hansen, G. Romero, and J. Larner. 1990. Low urinary *chiro*-inositol excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New Eng. J. Med.* **323**, 373-378.
- Larner, J. 2001. *D-chiro*-inositol in insulin action and insulin resistance. *IUBMB Life* **51**, 139-148.
- Louis, P. and E. A. Galinski. 1997. Characterization of genes for the biosynthesis of the compatible solute ectoine from *Marinococcus halophilus* and osmoregulated expression in *E. coli*. *Microbiol.* **143**, 1141-1149.
- Loewus, F. A. and P. P. N. Murthy. 2000. *myo*-Inositol metabolism in plants. *Plant Sci.* **150**, 1-19.
- Ma, J. M., M. Horbowicz, and R. L. Obendorf. 2005. Cyclitol galactosides in embryos of buckwheat stem - leaf - seed explants fed *D-chiro*-inositol, *myo*-inositol or *D*-pinitol. *Seed Sci. Res.* **15**, 329-331.
- McCue, K. F. and A. D. Hanson. 1990. Drought and salt tolerance: Towards understanding and application. *Biotechnol.* **8**, 358-362.
- Niu, X., R. A. Bressan, P. M. Hasegawa, and J. M. Pardo. 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol.* **109**, 735-742.
- Nelson, D. E., G. Rammesmayr, and H. Bohnert. 1998. Regulation of cell-specific inositol metabolism and transport in plant salinity tolerance. *Plant Cell* **10**, 753-764.
- Ono, H., K. Sawada, N. Khunajakr, T. Tao, M. Yamamoto, M. Hiramoto, A. Shinmyo, M. Takano, and Y. Murooka. 1999. Characterization of biosynthetic enzymes for ectoine as a compatible solute in a moderately halophilic eubacterium, *Halomonas elongata*. *J. Bact.* **181**, 91-99.
- Ortmeier, H. K., L. C. Huang, L. Zhang, B. C. Hansen, and J. Larner. 1993. Acute effects of *D-chiro*-inositol administration in streptozotocin-diabetic rats, normal rats given a glucose load, and spontaneously insulin-resistance rhesus monkeys. *Endocrinol.* **132**, 646-651.
- Pak, Y., C. R. Paule, Y. D. Bao, L. C. Huang, and J. Larner. 1993. Insulin stimulates the biosynthesis of *chiro*-inositol obtaining phospholipids in a rat fibroblast line expressing the human insulin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 7759-7763.
- Romero, G. and J. Larner. 1993. Insulin mediators and the mechanism of insulin action. *Adv. Pharm.* **24**, 21-59.
- Romero, G., L. Luttrell, A. Rogol, K. Zeller, E. Hewlett, and J. Larner. 1998. Phosphatidylinositol-glycan anchors of membrane proteins: Potential precursors of insulin mediators. *Science* **240**, 509-511.
- Shen, B., R. G. Jensen, and H. Bohnert. 1997. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts. *Plant Physiol.* **113**, 1177-1183.
- Sheveleva, E., W. Chmara, H. Bohnert, and R. G. Jensen. 1997. Increased salt and drought tolerance by *D*-ononitol production in transgenic *Nicotiana Tabacum L.* *Plant Physiol.* **115**, 1211-1219.
- Steadman, K. J., M. S. Burgoon, R. L. Schuster, B. A. Lewis, S. E. Edwardson, and R. L. Obendorf. 2000. Fagopyritols, *D-chiro*-inositol, and other soluble carbohydrates in buckwheat seed milling fractions. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2843-2847.
- Streeter, J. G., D. G. Lohnes, and R. J. Fioritto. 2001. Patterns of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance. *Plant Cell and Environ.* **24**, 429-438.
- Sze, H., X. Li, and M. G. Palmgren. 1999. Energization of plant cell membranes by H<sup>+</sup>-pumping ATPases: Regulation and biosynthesis. *Plant Cell* **11**, 677-689.
- Taylor, S. I., D. Accili, and Y. Imai. 1994. Insulin resistance or insulin deficiency: Which is the primary cause of NIDDM. *Diabetes* **43**, 735-740.

31. Vernon, D. N. and H. J. Bohnert. 1992. A novel methyl transferase induced by osmotic stress in the facultative halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. *EMBO. J.* **11**, 2077-2085.
32. Vernon, D. M. and H. J. Bohnert. 1992. Increased expression of a myo-Inositol methyl transferase in *Mesembryanthemum crystallinum* is part of a stress response distinct from crassulacean acid metabolism induction. *Plant Physiol.* **99**, 1695-1698.
33. Vernon, D. M., J. A. Ostrem, and H. J. Bohnert. 1993. Stress perception and response in a facultative halophyte: The regulation of salinity-induced genes in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Cell Environ.* **16**, 437-444.
34. Yancey, P. H., M. E. Clark, S. C. Hand, R. D. Bowlus, and G. N. Somero. 1982. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science* **217**, 1214-1222.
35. Yoshida, K.T., T. Fujiwara, and S. Naito. 2002. The synergistic effects of sugar and abscisic acid on myo-inositol-1-phosphate synthase expression. *Physiol. Plant* **114**, 581-587.