

<http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2023.9.4.587>

JCCT 2023-7-71

식물 조직학적 방법에 의한 β -D-fructofuranosidase의 기능 연구

Study of the Function of β -D-fructofuranosidase by Plant Histological Method

김동균*

Donggiun Kim*

요약 식물의 성장은 유기물 이용 가능성을 비롯한 다양한 요인에 의해 조절된다. 유기 영양소는 "소스"라고 하는 탄소 및 에너지 고정과 관련된 조직에서 생성된 광합성 제품으로 탄수화물 분자이다. 이러한 화합물은 식물 유관속을 통해 "싱크"라고 하는 비광합성 또는 성장 조직으로 흐른다. 이러한 기능이 가능한 화합물 중에서, 이당류 프럭토실 글루코스인 자당이 가장 대표적이다. 자당이 수송 동안, 소스에서 싱크로의 경로는 자당을 글루코스 및 과당의 유도체로 분해하거나 자당의 직접적인 이동을 포함할 수 있다. 이때 관여하는 효소 중에 β -D-fructofuranosidase가 가장 중요하다. 여러 동위효소 중의 하나인 가용성중성 β -D-fructofuranosidase는 세포 내 원형질체 안에 위치하여 식물 세포에게 자당을 분해하여 에너지생성 물질대사를 돕는다. 이 효소의 활성을 식물이 성장하는 과정 동안에 추적하기 위해서 가장 효과적인 면역 국소화를 위해서 조직학적 방법을 사용하였다. 그 결과 잎에서 엽육 조직보다는 사부와 표피에 활성이 높았다. 성장하는 줄기에서는 사부, 표피, 그리고 피층에 활성이 높았다. 싱크조직인 뿌리는 모든 부분에 활성이 높았지만 특별히 가장 끝 부분에는 가장 높았다. 자당의 분해를 필요로 하는 싱크조직에서 자당의 unloading을 돕고, 자당을 분해하는 역할을 담당하기 때문에 사료된다.

주요어 : 식물, 성장, 자당, 자당분해효소, 조직학적 방법

Abstract Plant growth is regulated by a variety of factors, including organic matter availability. Organic nutrients are carbohydrate molecules from photosynthetic products produced by tissues associated with carbon and energy fixation called "sources". These compounds flow through plant vascular bundles into non-photosynthetic or growing tissues called "sinks". Among these possible compounds, the disaccharide fructosyl glucose, sucrose, is the most representative. During the transport of sucrose, the pathway from the source to the sinks can include hydrolysis of sucrose into glucose and fructose derivatives or direct transfer of sucrose. Among the enzymes involved in this, β -D-fructofuranosidase is the most important. Soluble neutral β -D-fructofuranosidase, one of several isoenzymes, is located in intracellular protoplasts and helps plant cells metabolize sucrose to produce energy. In order to track the activity of this enzyme during the course of plant growth, histological methods were used for the most effective immunolocalization. As a result, the activity was higher in the phloem and epidermis than in the mesophyll tissue in the leaf. In the growing stem, activity was high in the phloem, epidermis, and cortex. The activity of the root, which is a sink tissue, was high in all parts, but especially the highest in the root tip part. It is thought that this is because it helps unloading of sucrose in sink tissues that require sucrose degradation and plays a role in hydrolysing sucrose.

Key words : Plant, Growth, Sucrose, β -D-fructofuranosidase, Histochemical method

*정회원, 신라대학교 반려동물학과 교수 (제1저자 겸 주저자) Received: May 15, 2023 / Revised: June 10, 2023
접수일: 2023년 5월 15일, 수정완료일: 2023년 6월 10일 Accepted: July 5, 2023
게재확정일: 2023년 7월 5일 *Corresponding Author: botanist@silla.ac.kr

Dept. of Companion Animals, Silla Univ, Korea

I. 서 론

식물 대부분의 광합성 조직에서 새로 동화된 탄소는 자당으로 운반된다. 식물의 각 조직 및 기관에서 탄소 및 에너지원으로서 자당의 사용은 식물 성장 및 발달에 중요한 β -D-fructofuranosidase (이하, fructofuranosidase 로 칭한다) 또는 수크로스 합성효소에 의한 절단에 달려 있다. fructofuranosidase 는 가수분해효소로, 자당을 포도당과 과당으로 비가역적으로 분해하는 것을 촉매한다. 그들의 세포 내에서 국소 위치화에 따라 fructofuranosidase 는 cytosolic fructofuranosidase, vacuolar fructofuranosidase 및 세포벽 (extracellular) fructofuranosidase 로 분류될 수 있다. 지난 수십 년 동안 fructofuranosidase 는 식물계에 널리 분포되어 있으며 fructofuranosidase 의 존재를 설명하는 수많은 연구가 발표되었다. 비록 이 효소의 가능한 생리학적 역할이 오랫동안 식물학자들의 흥미를 끌었지만, 그들의 체내 위치화에 거의 주의를 기울이지 않았고, 그러한 연구가 성장과 발달에서 수행되었을 때 일반적으로 해부된 조직에서 효소의 측정으로 제한되었다[1]. 유전자의 시간적 발현 패턴을 이해하기 위해서는 노던 블롯 또는 정량적 실시간 RT-PCR 분석에서 일상적으로 판단되는 것처럼 유전자의 공간적 발현을 위치화하는 것이 중요해지고 있다. 공간 위치 파악에 사용할 수 있는 방법은 in situ hybridization과 유전자의 프로모터와 융합된 리포터 유전자를 사용하는 것이다. 특정 기질과의 반응에 의한 리포터 유전자의 활성화 또는 방사선 감광 반응에 의한 mRNA의 검출은 유전자가 기능적 단백질로 전사된다는 명확한 증거를 제공하지 않는다. 전사 후 조절이 발생할 수 있다. 때때로 전사된 mRNA는 유전자 침묵 기작에 의해 분해된다. 그것은 mRNA 수준의 신호 검출이 식물의 시간적 및 공간적 유전자 발현에 대한 모호한 정보를 종종 알려줄 수 있음을 의미한다. 유전자에 의해 암호화된 단백질의 발현을 감지하기 위해 추출물에서 효소활성이 일상적으로 결정되지만, 이 방법으로는 식물 내 효소의 위치에 대한 정보를 얻을 수 없다. 오늘날 면역 극소화는 식물 조직에서 단백질 자체의 발현 및 위치화를 연구하기 위한 매우 강력한 도구였다. 그러나 식물 조직에서 면역 세포 화학의 이러한 접근 방식을 수행하려면 연구원은 사전에 특정 단백질 특정 항체를 가지고 있어야 한다. 불행하게도 특정 단

백질에 특이적인 항체가 상업 회사나 연구 그룹에서 사용할 수 있는 경우는 많지 않다. 따라서 면역세포화학 연구의 적용은 특정 항체가 상업적으로 이용 가능하거나 맞춤형으로 제작되는 연구 분야에 매우 제한적이다. 식물의 일반적 성장은 “소스”라 불리는 광합성 조직에서 자당을 만들어 “싱크”라는 비 광합성 조직에 보내어 영양분을 공급해야 성장을 할 수 있다[2]. 따라서 fructofuranosidase 는 자당을 소스 세포에서 싱크 세포로의 포도당으로 전환시키는 데 중요한 역할을 한다. 그러나 fructofuranosidase의 동위효소의 위치에 대해 거의 알려지지 않았기 때문에 다양한 fructofuranosidase의 각 동위효소의 정확한 기능은 조사되지 않았다.

fructofuranosidase 를 정제하고 특성화한 후, 많은 연구자들은 조직이나 기관, 심지어 세포 이하 수준에서도 fructofuranosidase의 국소화를 확인하려고 했다. Murayama와 Handa는 각각의 fructofuranosidase의 기능을 제시하지는 않았지만 일부 fructofuranosidase 가 식물 소기관, 미토콘드리아 및 색소체에 위치한다고 보고했다. 그러나 조직 또는 기관 수준에서 fructofuranosidase 위치화 연구에 대한 몇 가지 보고서가 발표되었다 [3]. 여러 기관에서 이 효소의 국소 위치화 연구는 대부분 세포 또는 조직 수준에서 다루었다. 여전히 증가하는 많은 수의 연구에서 fructofuranosidase 가 다양한 조직에서 중요한 역할을 한다는 것이 밝혀졌다. 우리는 기증받은 항체를 사용하여 정확한 조직에서 위치를 특정하고 기능을 고찰하여 발표한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

식용으로 재배된 강낭콩을 인터넷 판매처인 “숲속의 풀피리”에서 구매하여 실내에서 배양시켜서 성장을 관찰하고 실험 재료로 사용하였다.

2. 배양 조건과 방법

배양 상태는 온도를 유지하기 위해서 incubator에서 성장시키며, 20~23°C의 온도에 24시간 중 12시간을 빛 처리를 하였다. 암 처리로 12시간을 설정하였다. 일정한 조도를 유지하기 위해서 1,000 lm의 광도를 지닌 기내 배양용 Plant Growth 램프를 사용하여 빛을 제공했다. 습도는 50~80%로 유지하였다[4].

3. 광학현미경 연구

면역 세포 화학적 방법은 항체-항원 상호작용의 민감도와 특이성을 광학현미경 또는 전자현미경으로 조직의 면역반응성을 시각화하는 능력과 결합한다. 면역 위치화는 조직 고정, 탈수, 침윤, 포매, 절편화, 탈납, 탈수, BSA 또는 젤라틴 용액으로 차단, 일차 항체 및 알칼리성 포스파타제와 접합된 이차 항체와의 반응, 알칼리성 포스파타제 활성에 대한 염색에 의한 양성 반응의 검출을 포함한다. 탈수된 절편을 Permount로 커버 슬립 아래에 장착하고 Zeiss Ultraphoto 광학 현미경에서 Microlumina 저속 디지털 카메라로 사진을 촬영 하였다. 조직의 작은 조각(2 - 5mm)을 50mM 시트레이트/포스페이트 완충액(pH 7.4)에 2%(w/v) 파라포름알데히드 및 1%(v/v) 글루타르알데히드를 함유하는 미리 냉각된 고정액에 4에서 2시간 동안 두었다. 10초 동안 고출력에서 500W 마이크로파로 전송하기 전에 고정 조직을 50mM 시트레이트/포스페이트 완충액 (pH 7.4)에서 3 x 10분 세척하고 이중 증류수에서 2 x 10분 씻었다. 내장된 샘플은 1 x 1cm 왁스 블록에서 제거되었다. 섹션(두께 15 μ m)은 회전 마이크로톰(Spencer Lens Co., Buffalo, NY)을 사용하여 절단했다. 5-7개의 직렬 섹션의 리본을 폴리-L-리신 코팅된 현미경 슬라이드에 배치했다. 왁스가 녹을 때까지 1-2분 동안 60 $^{\circ}$ C 오븐에 놓기 전에 슬라이드를 37 $^{\circ}$ C 오븐에서 밤새 건조시켰다. 냉각된 슬라이드는 실온에서 보관하였다.

4. 1차 및 2차 항체와의 반응

슬라이드의 재 수화된 절편을 TBS 완충액의 3% BSA와 함께 2시간 동안 배양하여 절편 또는 유리의 비특이적 단백질 결합 부위를 차단했다. 슬라이드를 실온에서 20시간 동안 선택된 항 fructofuranosidase 항체 및 대조군으로서 면역전 혈청과 함께 인큐베이션 하였다. 항체를 차단 용액에 희석하였다(1:500). 슬라이드를 TBS 버퍼 5x10분으로 일정하게 흔들면서 씻었다. 슬라이드를 실온에서 1시간 동안 2차 항체(차단 용액에 희석된 알칼리 포스파타아제와 접합된 1:1000 염소 항-토끼 IgG)에서 배양했다. 세척된 슬라이드를 상온에서 30분 동안 알칼리 포스파타아제 분석 용액으로 처리하였다. 수돗물로 세척하여 반응을 중지시켰다. 슬라이드는 50%, 70%, 90%, 100%, 100% 에탄올에 이어 25% 자일렌/에탄올, 50% 자일렌/에탄올, 75% 자일렌/에탄올, 100%

크실렌, 100% 크실렌. 절편을 매우 희석되고 가스가 제거된 Permount 몇 방울로 덮고 커버 유리를 적용했다.

5. 콩 fructofuranosidase 의 면역 국소화

가용성 알칼리성 fructofuranosidase (친절하게 기증하여 준 사탕무 가용성 알칼리성 fructofuranosidase, Ross 및 Davies, 미공개)를 면역 국소화 연구에 사용했다. 광학 현미경으로 fructofuranosidase 를 조직 수준에서 국소화하기 위해 다양한 콩 조직을 고정, 포매 및 절편화 하고 알카라인 포스파타아제 표지 이차 항체 및 BCIP/NBT 시각화를 사용하여 면역 국소화 절차를 수행했다. 토끼 면역 전 혈청을 음성 대조군으로 사용했다.

III. 결과 및 고찰

1. 성숙한 잎에서 효소 활성

14 일 동안 성장된 강낭콩은 꽃을 피울 정도 성숙한 식물 개체가 된다. 이때는 독립 영향을 가능케 한 광합성 작용이 활발하게 일어난다. 광합성 산물인 자당을 생성해서 “소스”인 잎의 옆육 세포에서부터 “싱크”인 뿌리까지 자당을 운반한다. 이때 잎에 옆육 세포는 자당을 합성하고 잎의 사부를 통과하여 싱크인 줄기의 사부 그리고 뿌리의 사부를 통해서 여러 곳에 쌍방향으로 자당을 수송한다. 이때 식물체내의 조직과 세포내에 자당이 운반되거나 fructofuranosidase 의 가수분해작용으로 분해되어 포도당과 과당으로 변환되어 해당 작용을 거쳐 식물의 에너지로 활용되어진다.

본 연구에서 조직에서 합성된 광합성 물질이 잎에서 활용되는 것으로 가용성 알칼리성 fructofuranosidase가 잎에서 활성이 높다는 것을 보여준다. 대조군 과 비교(그림 1-C)은 가용성 알칼리성 fructofuranosidase의 활성이 표피 사부에 높다. 상대적으로 엽육 세포에는 낮다(그림 1-A). 이는 자당을 생성하는 옆육세포 조직보다는, 확장되고 있는 표피 부분에 자당 분해효소 반응이 크다는 증거이다. 이것은 자몽에서 잎이 발달하는 동안에 산성 가용성 ructofuranosidase가 높은 활성을 갖지만 성숙한 잎에 주된 ructofuranosidase가 활성은 가용성 알칼리 ructofuranosidase가 활성이 크다는 것과 동일하다[5].

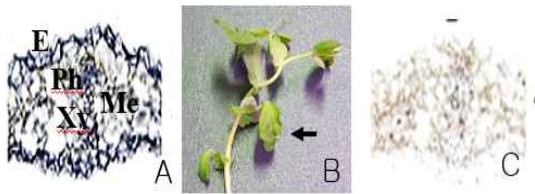


그림 1. 14일 된 묘목의 잎에서 가용성 알칼리 fructofuranosidase의 면역 국소화. 항체를 사용하여 14일 된 묘목의 완전히 확장된 잎에서 화살표로 식별되는 잎맥 부분. 축척 막대 = 0.1mm. A. 가용성 알칼리성 프록토피라노시다제 항체. B. 14일 된 콩 묘목 C. 사전 면역 혈청. E : 표피, Me : 엽육, Ph: 사부, Xy : 목부

Figure 2. Immunolocalization of soluble alkaline fructofuranosidase in leaves of 14-day-old seedlings. Leaf vein segments identified by arrows in fully expanded leaves of 14-day-old seedlings using antibodies. Scale bar = 0.1 mm. A. Soluble alkaline fructofuranosidase. B. 14-day-old bean seedlings C. Pre-immune serum. E: epidermis, Me: Mesophyll, Ph: phloem, Xy: xylem

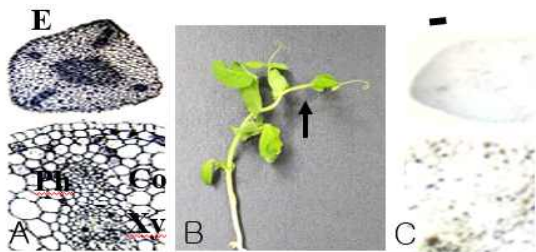


그림 2. 14일 된 묘목의 어린 줄기에서 가용성 알칼리성 fructofuranosidase의 면역 국소화. 항체를 사용하여 14일 된 묘목의 완전히 확장된 줄기에서 화살표로 식별되는 줄기(6번째 마디) 부분. 축척 막대 = 0.1mm. A. 가용성 알칼리성 프록토피라노시다제 항체. B. 14일 된 콩 묘목 C. 사전 면역 혈청. E: 표피, Co: 피층, Ph: 사부, Xy: 목부

Figure 2. Immunolocalization of soluble alkaline fructofuranosidase in young stems of 14-day-old seedlings. Portion of stem (6th node) identified by arrows in fully expanded stem of 14-day-old seedlings using antibodies. Scale bar = 0.1 mm. A. Soluble alkaline fructofuranosidase. B. 14-day-old bean seedlings C. Pre-immune serum. E: epidermis, Co: Cortex, Ph: phloem, Xy: xylem

2. 어린 줄기에서 효소 활성화

급속히 성장하는 어린 줄기에서 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 활성을 확인한 실험에는(그림2-A), 대조군 (그림 2-C)과 비교했을 때 유관속 사부의 활성이 크게 증가하였고 피층과 표피 활성이 증가하는 것을 볼 수 있다 (그림 2-A). 이는 유관속의 사부로 이동해 온 후에 자당이 사부에서 하적(unloading)하는 과정에서 자당 보다는 포도당과 과당으로 분해해서 분배하는 방법을 식물이 선택적 효소 활성을 하는 것으로 보여

진다 (그림 2-A). 그리고 분해 되지 않은 자당은 피층이나 표피에서 분해되어지기 그 조직 부분에 위치한 분해효소활성으로 분해되는 것으로 볼 수 있기에 피층과 표피에서 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 활성이 높다 (그림 2-A). 이러한 결과는 여러 식물에서 관찰되는데 뿌리 또는 괴경과 같은 저장 기관의 초기 성장 단계에서는 가용성 fructofuranosidase의 활성이 상대적으로 높다. 이러한 기관의 발생 동안 fructofuranosidase 활성은 자당 축적을 감소시킨다 [6].

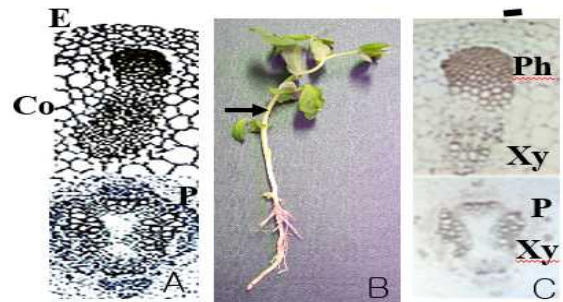


그림 3. 14일 된 묘목의 성숙한 줄기(3번째 마디)에서 가용성 알칼리성 fructofuranosidase의 면역 국소화. 가용성 알칼리성 fructofuranosidase의 항체를 사용하여 14일 된 묘목의 완전히 확장된 줄기에서 화살표로 식별되는 줄기 (3번째 마디) 부분. 축척 막대 = 0.1mm. A. 가용성 알칼리 프록토피라노시다제 항체. B. 14일 된 콩 묘목 C. 사전 면역 혈청. E : 표피, Co: 피층, Ph: 사부, Xy : 목부, P: 수

Figure 3. Immunolocalization of soluble alkaline fructofuranosidase in mature stems of 14-day-old seedlings. Segment of stem (3rd node) identified by arrows in a fully expanded stem of a 14-day-old seedling using an antibody of soluble alkaline fructofuranosidase. Scale bar = 0.1 mm. A. Soluble alkaline fructofuranosidase antibody. B. 14-day-old bean seedlings C. Pre-immune serum. E: epidermis, Co: cortical layer, Ph: phloem, Xy: xylem, P: pith

3. 성숙한 줄기에서 효소 활성화

같은 묘목의 줄기에서 오래된 성숙한 마디에서 성숙한 줄기의 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 기능을 관찰하기 위해서 셋째 마디를 사용하였다. 대조군에서 보여주듯이 유관속에서 사부와 목부는 대단히 커다란 세포들이 존재하기에 효소의 활성 보다는 세포 자체 염색이 진하게 된 것을 보여 준다 (그림 3-C). 하지만 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 활성은 표피와 피층 그리고 사부에 강하게 염색 되어 진다 (그림 3-A). 이것은 유관속 사부조직에서 하적되어지는 자당이 사부에서 분해되어 포도당과 과당을 공급해 주고 있다는 증거로 조직 여러 곳에 가용성 알칼리성 fructofuranosidase

활성이 높다는 것을 알 수 있다. 특별히 싱크 세포에서는 세포 원형질체 존재한 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 이 모든 세포에 위치하여 해당 작용에 필요한 포도당과 과당으로 공급 한다고 사료 된다.

4. 성장하는 1차 뿌리의 끝 부분에서 효소 활성

묘목의 뿌리 끝부분은 가장 많은 에너지를 필요로 하는 부분이다. 그것은 급속히 성장하는 부분이며 빠르게 물과 미네랄을 일부분으로 이동시키는 물질대사가 왕성한 부분이다. 그런 기능을 수행하기 위해서 영양분으로 많은 자당이 필요하고, 또 분해되어서 물질대사가 순조롭게 일어나게 해야 한다 (그림 4-B). 그러므로 모든 부분에 골고루 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 활성을 일어나고 특별히 표피와 피층에 다른 조직의 표피나 피층 보다 진하게 염색되는 것을 볼 수 있다 (그림 4-A). 이것은 입에서부터 공급되는 자당이 급속도로 하적 되면서 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 활성으로 가수분해 되고 있는 증거이다. 뿌리는 싱크 조직으로 광합성 산물인 자당이 공급되어 쥐야 물질대사가 일어나는 기관 이다. 그래서 표피와 피층 모든 부분에 가수 분해효소의 활성이 보여 진다.

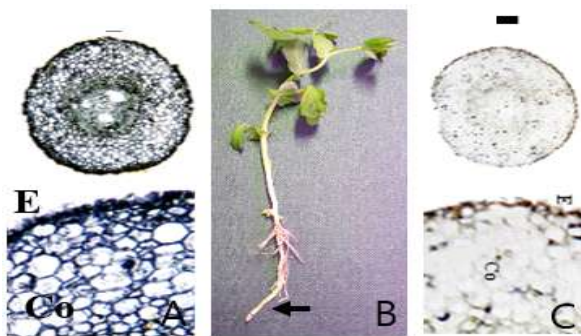


그림 4. 14일 된 묘목의 어린 1차 뿌리에서 가용성 알칼리성 fructofuranosidase의 면역 국소화. 가용성 알칼리성 fructofuranosidase의 항체를 사용하여 14일 된 묘목의 1차 뿌리 (화살표로 식별되는) 부분. 축척 막대 = 0.1mm. A. 가용성 알칼리성 프록토폴라노시다제 항체. B. 14일 된 콩 묘목 C. 사전 면역 혈청. E :표피, Co: 피층

Figure 4. Immunolocalization of soluble alkaline fructofuranosidase in young primary roots of 14-day-old seedlings. Sections of young primary roots (identified by arrows) of 14-day-old seedlings using antibodies to soluble alkaline fructofuranosidase. Scale bar = 0.1 mm. A. Soluble alkaline fructofuranosidase antibody. B. 14-day-old bean seedlings C. Pre-immune serum. E: epidermis, Co: cortex

이 결과는 싱크 조직은 공통적으로 가용성 알칼리성 fructofuranosidase 활성이 높다는 증거로 종자 발달에 대한 연구에서 자당 하역 부위로 알려진 종피 실질 세포의 얇은 벽에서 β -fructofuranosidase 가 발견되었다. 더 높은 β -fructofuranosidase 활성은 더 높은 육탄당 농도와 관련이 있다고 보고 되었다 [7]. 이와 상응하게 뿌리 부분에 효소활성이 높게 나타나는 것으로 사료된다.

IV. 결 론

자당을 수송하는 동안 공급원에서 흡수 원으로의 경로에는 자당을 포도당 및 과당 유도체로 가수분해하거나 자당을 직접 전달하는 된다. 이것에 관련된 효소 중에서 β -D-fructofuranosidase가 가장 중요하다. 수용성 중성 fructofuranosidase는 여러 동위효소 중 하나로서 세포 내에 위치하며 식물 세포가 sucrose를 대사하여 에너지를 생산하도록 돕는다. 식물 성장 과정 동안 이 효소의 활성을 추적하기 위해, 가장 효과적인 면역 국소화를 위해 조직학적 방법이 사용되었다. 그 결과 잎의 엽육 조직보다 체관부와 표피에서 활성이 더 높게 나타났다. 성장하는 줄기에서는 체관부, 표피, 피질의 활성이 높았다. 싱크 조직인 뿌리에서도 이 효소의 활성이 모든 부위에서 높았으나 특히 뿌리 끝 부분에서 가장 높았다. 이는 자당 분해가 필요한 싱크 조직에서 자당의 하역을 돕고 자당을 가수 분해하는 역할을 수행하기 때문인 것으로 생각된다.

References

- [1] D. Kim. Biochemical Properties and Physiological Functions of Plant β -D fructofuranosidase Journal of Life Science, Vol. 27. No. 7. 849~856, 2017
- [2] M. A. Madore, and W. J. Lucas, Carbon partitioning and source-sink interactions in plants. Current topics in plant physiology: Amer. Soc. Plant Physiol. Ser. 13, 1-287.1995
- [3] S. Murayama, and H. Handa,. Genes for alkaline/neutral invertase in rice: alkaline/neutral invertases are located in plant mitochondria and also in plastids. Planta, 225, 1193-1203, 2007
- [4] D. Kim Hormonal Study to Induce Direct Organ Differentiation of Kalanchoe pinnata by Tissue

- Culture. The Journal of the Convergence on Culture Technology, Vol.7(4), pp.721-726, 2021
- [5] A. A. Schaffer, Invertases in young and mature leaves of *Citrus sinensis*. *Phytochemistry* 25, 2275-2277. 1986.
- [6] J. Wang, S. Nayak, K. Koch and R. Ming, Carbon partitioning in sugarcane (*Saccharum* species). *Front. Plant Sci.* 4, 201. 2013.
- [7] H. Weßer, L. Borisjuk, U. Heim, P. Buchner, and U. Wobus, 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, 1995