

황 및 질소영양조건에 따른 대두 종자저장단백질의 구성변이

금호생명환경과학연구소, 금호석유화학(주)

백 남 천

Iowa주립대학교 농학과

John Imsande, Randy Shoemaker, Richard Shibles

Differential Accumulation of Seed Storage Protein Subunits by Sulfur and Nitrogen Nutrition in Soybean

Kumho Life & Environment Science Laboratory, Korea Kumho Petrochemical Co., LTD.

N.C. Paek

Iowa State University, Department of Agronomy

J. Imsande, R. Shoemaker, R. Shibles

실험목적

대두종자의 단백질함량은 37-45%로서 식물성단백질의 주요 공급원이나 영양가 측면에서 돼지, 닭 및 인간 동등 단위동물의 필수성취아미노산인 황아미노산(cysteine, methionine)의 결핍으로 단일식용원으로서 문제시 되어 지난 15년 동안 대두의 종자단백질의 양(量)뿐만 아니라 질(質)적 증가를 위한 많은 연구와 유전공학적인 시도가 있어 왔다. 본 연구는 영양조건을 조절하여 대두의 종자단백질의 함량의 증가에 따른 구성변이 및 질적변화를 조사하고 대두종자의 황아미노산의 부족의 근본 원인을 규명하고 연구방향을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

- 실험재료: 미국 Iowa주의 장리품종 중 Harper 및 Kenwood
- 실험장소: Iowa주립대학교 농학과 온실
- 실험방법: 수경재배를 통한 영양분의 공급을 조절함

A. 질소영양조건에 따른 종자저장단백질의 구성변이 (Harper): 각 실험 2반복

I. 종자성숙시 질소영양 결핍조건: R2단계(podding)까지 6mM KNO₃ 조건으로 기른 뒤 전체집단의 반(20주)을 Bradirrhizobium japonicum Strain 138로 접종하여 모든 식물을 1.5mM urea + 1.5mM KNO₃ 조건에서 R4(종자성숙시작)단계까지 진전 후 집중된 식물체에는 더 이상의 질소영양을 주지않았다. 집중시키지 않은 20주(control)의 식물체엔 종자수확까지 6mM KNO₃ 조건에서 생육시켰으며 R8단계에서 종자수확을 하였다.

II. 종자성숙시 질소영양 증가조건: R4.5단계까지 6mM KNO₃ 조건으로 기른 뒤 각 20주 식물체를 하나의 처리로서 5처리군으로 나누어 질소영양조건을 달리하였다; 1) 4mM KNO₃(control), 2) 2mM NH₄NO₃, 3) 2mM KNO₃ + 1mM urea, 4) 1mM KNO₃ + 1.5mM urea, 5) 2mM urea. 수경재배액의 buffer로서 2mM MES로 pH를 조절하였고 일주일에 2번 갈아주었다.

B. 황(S)영양조건에 따른 종자저장단백질의 구성변이 (Kenwood): 각 실험 2반복

모든 식물체의 질소 및 황 영양조건을 5mM KNO₃ 와 0.4mM Na₂SO₄ 하에 R4.5까지 진전 후 각 8주를 하나의 처리로 황영양조건 처리로서 No sulfur, 0.4mM Na₂SO₄(control), 0.2mM L-cystine 과 0.05mM, 0.2mM, 0.4mM L-methionine을, 황영양결핍조건으로는 격주로 0.004mM Na₂SO₄를 R4.5단계까지 공급한 뒤 No sulfur와 0.4mM Na₂SO₄를 종자성숙말기(R7)까지 공급한 뒤 R8단계에서 종자수확하였다.

C. 분석방법: 종피를 제거한 후 종자의 질소함량은 micro-kjeldahl로 구하였고 수용성단백질 추출 후 10-15% gradient SDS-PAGE로, 각 단백질의 단위별 조성은 densitometer로 단백질 구성변이를 조사하였다.

결과 및 고찰

종자성숙기동안 질소고정을 유일 질소공급원으로 할 때 5-7% 정도의 단백질함량의 절대적 감소가 있었으며 각 단백질단위들 또한 각각 감소하였다. 그러나 beta-conglycinin의 beta-subunit의 상대적 감소가 심하게 일어나므로서 전체 단백질 구성중 상대적으로 glycinin 함량이 증가하여 11S/7S ratio는 증가하였다.

종자성숙기동안 4mM 질소공급원을 NO₃태에서 NH₄태로 바꿈에 따라 종자단백질의 함량은 점차적으로 증가하였으나 glycinin의 절대적인 함량은 변화하지 않고 오직 beta-conglycinin의 beta-subunit의 절대적 함량만이 계속 증가하여 glycinin의 상대적 감소가 일어나므로서 11S/7S ratio의 감소를 초래하였다.

황(S)영양조건에 따른 총 종자단백질함량에는 차이가 나지 않았으나 단백질구성에 있어서 현저한 변이를 보였다. 종자성숙기동안 황결핍(no sulfur, 0.05mM methionine)이 생기면 beta-conglycinin의 beta-subunit의 현저한 상대적인 증가가 있었고, 0.4mM sulfate(control)와 0.2mM cystine과는 구성에 차이가 없었다. 0.4mM methionine조건에서만 beta-subunit축적이 일어나지 않아 종자단백질 각 단위별 유전자발현 및 단백질축적은 식물체로부터 환원태질소 및 황아미노산(특히 L-methionine)의 비율에 의해 11S 및 7S 단백질 함량이 결정되고 있음을 보였다. 종자의 단백질함량 및 황아미노산의 증가를 위해서는 종자성숙시작 후의 모본과 성숙중인 종자내의 질소 및 황 대사과정에 대한 자세한 연구만이 한계를 극복할 수 있으리라 전망한다.

