

## 과요오드산 산화당에 의한 인공 당단백질의 조제

안 용 근  
충청대학 식품영양과

### Glycosylation of Protein by Conjugation of Periodate-Oxidized Sugars

Yong-Geun Ann

Department of Food and Nutrition, Chungcheong College

#### Abstract

Periodate-oxidized soluble starch and maltohexaose, maltotetraose, maltose, and glyceraldehyde reacted with sweet potato  $\beta$ -amylase, wheat  $\beta$ -amylase, aldolase, bovine serum albumin, catalase, carboxypeptidase, ferritin and pronase. Electrophoretical mobility of modified proteins was different from that of native proteins, and modified proteins were stained with periodic acid-Schiff while native proteins did not stain. This results means that oxidized sugars attached on proteins. This bond is based on the Schiff's base between CHO group of oxidized sugar and  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> group of lysine of protein. There is no changed UV absorption spectrum of sweet potato  $\beta$ -amylase modified with oxidized soluble starch, in comparison with native enzyme.

Key words: glycoprotein preparation, periodate-oxidized soluble starch, periodate-oxidized maltooligosaccharides

#### 서 론

당은 유전자나 단백질보다 관심을 끌지 못하였으나 최근 들어 당의 여러 가지 중요성이 발견되고 있다<sup>(1)</sup>. 당단백질은 생체의 주요 구성성분으로 사람 혈액 중에 존재하는 수십종의 단백질은 대부분 당단백질이고, 구조단백질, 트랜스페린, 세룰로플라스민, 피브리노겐, 면역 글로불린,  $\alpha_1$ -산성당단백질, 페루인 등도 당단백질이다. 그외에 호르몬, 인터페론, 효소 등 당단백질의 수는 매우 많다<sup>(2)</sup>.

이것은 당단백질이 세포나 분자 사이의 인식마커와 정보전달자로서 생체 대사와 활성발현을 조절하기 때문이다<sup>(3)</sup>. 또, 점성 분비물로 소화관, 눈 등에 들어오는 이물질과 유해균을 거르고, 위장관을 소화효소나 염산으로부터 보호하고, 자궁에서는 세균의 침입을 방지한다. 세포벽은 당단백질에 의해 견고한 구조를 이루고 있다<sup>(3)</sup>.

이것은 당단백질이 점성과 용해성, 유화성, 방부 효과 및 항산화 효과 등 많은 기능성을 갖기 때문이다. 그래서 이를 기능성을 이용하여 당단백질을 방부제,

선도유지제, 신미각물질, 장내세균 제어제, 충치 예방제, 기능성 단백질, 바이오리액터, 분리정제용 재료, 인공장기 재료, 바이오센서, 화장품 재료, 진단약 등으로 사용하려는 시도가 계속되고 있다.

이를 위해 여러 분야에서 인공적으로 당단백질을 조제하기 위해 노력하고 있다. 이를 탄수화물공학이라 하며, 당단백질(단백질이 주성분) 외에 올리고당, 당지질, 프로테오글리칸(당이 주성분)을 대상으로 하고, 당사슬 수준에서의 생체기능 조절의 해명, 당사슬의 구조 및 기능의 해석, 재구성 기술의 개발을 목표로 하고 있다<sup>(4)</sup>.

본연구에서는 값이 찐 재료를 사용하여 쉽고, 간단한 방법으로 무해하고 유용한 기능성 당단백질을 조제하고자 NaIO<sub>4</sub>-산화 전분 및 말토올리고당을 단백질과 반응시켜 당단백질을 만드는 방법을 개발하였다. 분자 표면에 리신의  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>기가 존재하는 효소 단백질은 이 방법으로 모두 당단백질로 조제할 수 있으며, 전보<sup>(5,6)</sup>에서는 이 방법으로 고구마  $\beta$ -아밀라아제에 산화당을 부가하여 고구마  $\beta$ -아밀라아제의 서브유니트 구조와 기능을 해석한 바 있다.

본 연구는 여러 단백질에 이 방법을 적용하여 당이 효과적으로 부가되는 것을 확인하여 당단백질 조제법으로 사용할 수 있는 가능성을 제시한 결과이다. 앞으

Corresponding author: Yong-Geun Ann, Department of Food and Nutrition, Chungcheong College, Wolgokri 330, Gangnae, Cheongwon, Chungbuk 363-890, Korea

로, 본방법으로 생성된 인공 당단백질의 물성을 확인하는 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각한다.

## 재료 및 방법

### 시약

일급 및 특급을 사용하였다. DEAE-Sephadex A-50 및 Sephadex G-200은 Pharmacia사(스웨덴) 제품, 가용성 전분은 國產化學(일본) 제품, 말토올리고당은 日本食品(일본)의 기증품, glyceraldehyde는 和光(일본) 제품을 사용하였다. Carboxypeptidase, bovine serum albumin, aldolase, ferritin, catalase는 Sigma사(미국) 제품, pronase는 나가제사(일본) 제품, 보리  $\beta$ -아밀라아제는 충청대학의 오 문현 교수가 분리 정제한 것을 받아서 사용하였다.

### 고구마 $\beta$ -amylase

전보의 방법<sup>(6)</sup>에 따라 정제하였다. 즉, 고구마 착즙액을 60°C에서 10분간 열처리하여 함유된  $\beta$ -아밀라아제에 상온에서의 아세톤에 대한 내성을 부여함과 동시에, 다량의 불순물을 열변성 제거시킨 다음 50, 45%, 두 번의 아세톤 침전으로 효소를 회수하여 DEAE-Sephadex A-50 및 Sephadex G-200으로 크로마토그래피하였다. 다음, 중류수에 투석하여 결정화하였다.

### 총당 정량

효소단백질에 결합한 당의 정량은 Phenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법<sup>(10)</sup>을 사용하였다. 즉, 당시료 1 mL에 5% 폐놀 1 mL를 가하고 횡산 5 mL를 가하여 발색시킨 다음 490 nm에서 글루코오스를 표준물질로 비색정량하였다.

### 환원당 정량

Somogyi-Nelson법<sup>(11)</sup>을 사용하였다. 즉, 시료액 0.4 mL에 Somogyi-Nelson 시약 A용액 1 mL를 가하여 100°C에서 10분간 가열한 다음 B용액 1 mL를 가하여 나머지를 중류수로 채워 25 mL로 하였다. 이 반응액을 Hitachi 124 UV/Vis 분광광도계(일본)를 사용하여 500 nm에서 글루코오스를 표준으로 비색정량하였다.

### $\beta$ -Amylase 활성 측정

전보의 방법<sup>(6)</sup>에 따랐다. 0.1 M acetate 완충액(pH 4.8) 중에서 끓여 녹인 0.2% 가용성 전분 0.2 mL와 효소액 0.2 mL를 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 Somogyi-Nelson A 시약 1 mL를 가하여 반응을 중지시키고, 100°C에서 10분간 가열하였다. 식힌 다음

Somogyi-Nelson B시약 1 mL를 가하고 중류수로 채워 25 mL로 한 다음 Hitachi 124 UV/Vis 분광광도계(일본)를 사용하여 말토오스를 표준으로 500 nm에서 비색정량하였다. 1 Unit는 1분간에 말토오스 1  $\mu$ mol을 유리하는 효소양으로 하였다.

### 폴리아크릴아미드 디스크 젤 전기영동(PAGE)

Davis<sup>(12)</sup>의 방법에 따라 7.5%의 아크릴아미드 젤을 중합하여 pH 8.8의 tris 완충액계에서 컬럼 하나당 50  $\mu$ g의 효소를 가하여 4 mA의 전류로 전기영동하였다. 단백질 염색은 Coomassie brilliant blue R-250 (CBB)으로, 당의 염색은 periodic acid-Schiff (PAS)법<sup>(13)</sup>으로 하였다.

### SDS-PAGE

Laemmli의 방법<sup>(14)</sup>에 따라 7.5%의 아크릴아미드 젤을 중합하여 0.1% SDS 존재하에 pH 8.8의 tris 완충액계에서 컬럼당 50  $\mu$ g의 효소를 가하여 5 mA의 전류로 전기영동하였다. 단백질 염색은 Coomassie brilliant blue R-250으로, 당의 염색은 PAS법<sup>(13)</sup>으로 하였다.

### 폴리아크릴아미드 직선 기울기 전기영동

Matsudaira등의 방법<sup>(15)</sup>을 일부 개량하여 사용하였다. 즉, 13.5 × 13.5 cm 판을 사용하여 아크릴아미드를 5%에서 20%까지 직선 농도 기울기로 중합시켜서 한 선당 10  $\mu$ g의 효소를 가하여 pH 8.8의 tris 완충액계에서 30 mA의 전류로 전기영동한 후 Coomassie brilliant blue R-250으로 단백질 염색하였다.

### PAS법에 의한 당단백질의 염색

전기영동후 폴리아크릴아미드 젤을 1% NaIO<sub>4</sub> 용액에 담가 당을 산화시켰다. 이 반응으로 형성된 당의 CHO기에 fuchsin 색소를 Schiff 염기로 결합시켜 발색시킨 다음, 0.5% metabisulfite로 세정하였다<sup>(13)</sup>.

### NaIO<sub>4</sub>에 의한 가용성 전분 및 말토올리고당의 산화

가용성 전분 및 maltohexaose, maltotetraose, maltose 등의 말토올리고당 2 g을 100 mL의 0.2 M NaIO<sub>4</sub> 용액에 혼탁하여 4°C에서 40분간 교반하여 반응시킨 다음 ethyleneglycol 10 mL를 가해 미반응의 NaIO<sub>4</sub>를 소모 제거시켰다. 가용성전분은 중류수에 투석하여 동결건조하였다. 말토올리고당 반응 혼합물은 Sephadex G-25 컬럼(1.9 × 150 cm)에 가하여 중류수를 용매로 5 mL씩 분취하여 280 nm의 흡광도와 Somogyi-Nelson<sup>(11)</sup>법에 의한 500 nm의 흡광도가 일치하는 피크 중, AgNO<sub>3</sub>에 의한

침전 반응을 일으키지 않는 피크를 모아 동결건조하였다.

#### 고구마 $\beta$ -아밀라아제에 대한 산화당의 부가

0.2 M  $H_3BO_3$ -KCl-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 완충액(pH 9.7) 10 mL에 고구마  $\beta$ -아밀라아제 60 mg과 산화전분 250 mg을 녹여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 1 M NaBH<sub>4</sub>-HCl 용액(pH 4.5)을 가해 pH를 7.5로 맞추고, 0.1 M NaBH<sub>4</sub>-HCl 완충액(pH 7.5) 중에서 4°C에서 24시간 투석 환원시켰다. 이를 Sephadex G-200 컬럼(3.5 × 104 cm)에 대하여 0.1 M NaCl을 함유한 0.1 M K-인산 완충액(pH 6.8)을 사용하여 5 mL씩 분취하여 크로마토그래피하였다. 유출액의 단백질 농도는 280 nm에서의 흡광도로, 효소활성은 가용성 전분을 기질로 생성된 환원당을 Somogyi-Nelson법<sup>(11)</sup>으로 비색정량하였고, 총당은 phenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법<sup>(10)</sup>으로 정량하였다. 크로마토그래피로 분자량 315,000의 펜타머(F-A)와 67,000(F-B)의 모노머를 분리하였다<sup>(9)</sup>.

#### 여러 단백질에 대한 산화당의 부가

0.25 M K-인산완충액(pH 8.0) 중에서 aldolase, bovine serum albumin, catalase, carboxypeptidase, ferritin, pronase, 밀  $\beta$ -amylase (1 mg/mL)에 산화 가용성 전분 20 mg/mL을 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 NaBH<sub>4</sub> 20 mg을 가해 환원시켰다.

#### UV spectrum

0.1 M K-인산 완충액에 녹인 산화전분 변형 효소(1 mg/mL)와 비변형 효소(0.9 mg/mL)를 Hitachi UV/Vis 분광광도계(일본)로 스캐닝하였다.

## 결과

#### 산화당 및 알데히드 수율

말토올리고당을 NaIO<sub>4</sub>로 산화시키면 Fig. 1과 같이 환원말단과 비환원 말단만 제외하고 1→2 사이의 결합이 열려서 알데히드가 생긴다. 그러나 해미아세탈

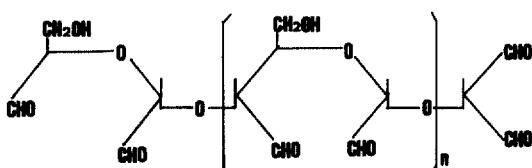


Fig. 1. Oxidized maltooligosaccharide by IO<sub>4</sub>.

결합이나 글리코시드 결합이 있으면 열리지 못 한다. 물론 산화도에 따라 일부 또는 전부 열릴 수도 있고, 생성되는 알데히드기의 수도 다르다. 본방법으로 산화시킨 산화전분의 수율은 산화후 투석 동결건조하여 생긴 무게 차이에서 75%, 산화 말토헥사오스의 수율은 Sephadex G-25의 겔 크로마토그래피로 저분자 물질을 제거한 다음 동결건조하여 생긴 무게 차이에서 55%, 산화 말토테트라오스의 수율은 같은 크로마토그래피 후의 무게 차이로 45%로 얻어졌다. 글루코오스를 표준 물질로 Somogyi-Nelson법<sup>(11)</sup>으로 정량한 산화당 1 mg당의 알데히드기는 가용성 전분은 2.05 mmol, 말토헥사오스는 2.33 mmol, 말토테트라오스는 2.2 mmol, 말토스는 1.06 mmol로 나타났다. 이를 산화당은  $\beta$ -아밀라아제에 의해 가수분해되지 않았다.

#### 고구마 $\beta$ -아밀라아제의 변형에 따른 서브유니트의 변화

글리세르알데히드, 산화말토오스, 산화말토테트라오스, 산화말토헥사오스, 산화가용성전분을 고구마  $\beta$ -아밀라아제와 작용시켜서 전기영동한 결과 Fig. 2와 같이 SDS 처리한 것과 처리하지 않은 것 모두 이동도가 달라져서 변형된 것으로 나타나고 있다. 글리세르알데히드로 변형시킨 것(G1)은 변형시키지 않은 효소(0)와 차이를 보이지 않으나 SDS로 처리(G1)하여 전기영동하면 두 효소의 차이가 뚜렷하여 변형된 것을 알 수 있다. 비변형 고구마  $\beta$ -아밀라아제(0)는 이 조건에

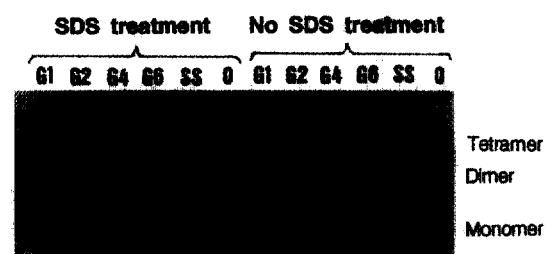


Fig. 2. PAGE of sweet potato  $\beta$ -amylase modified with oxidized soluble starch and several maltooligosaccharides. Fifty  $\mu$ L of the enzyme solution (1 mg/mL) was added to 50  $\mu$ L of each oxidized soluble starch and maltooligosaccharides solution (20 mg/mL) in 0.2 M  $H_3BO_3$ -KCl-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> buffer (pH 9.7) at 37°C for 10 min. SDS-treatment of the modified enzymes were done in the presence of 1% SDS at 100°C for 2 min, and 10  $\mu$ g/lane of the samples were applied. The electrophoresis was performed at pH 8.8 and 30 mA of electric current using acrylamide gel of a linear gradient system from 5% to 20% concentration. Enzyme with modified: G1, glyceraldehyde; G2, oxidized maltose, G4, oxidized maltotetraose; G6, oxidized maltohexaose; SS, oxidized soluble starch.

서 중합하여 여러 밴드를 나타내고 있다(Fig. 2).

당이 부가되면 이동도가 달라지는 것은 전하를 띤  $\text{NH}_2$ 기가 당과 반응하여 없어지고, 다른 하전기의 차단 등으로 단백질의 전하에 변화가 생기기 때문이다. 단백질 염색 밴드가 흐려지는 것도 당단백질의 특징이다<sup>(16)</sup>.

당의 부가로 고구마  $\beta$ -아밀라아제는 서브유니트로 나누어졌다. B의 가장 빠른 밴드는 모노머, 가운데는 다이머, 가장 느린 밴드는 테트라머로, 전보<sup>(17)</sup>에서 HPLC로 확인한 결과와 일치하며, 모노머를 얻는 데는 말토네트라오스 이상의 사이즈가 효과적이었다. 그러나 SDS-PAGE로는 서브유니트가 분리되어 모노머 밖에 나타나지 않고, PAGE는 분자량 외에 전하로 움직이기 때문에 자연형 효소의 분자량의 측정은 불가능 하지만 전보의 HPLC 결과<sup>(18)</sup>와 함께 해석하면 서브유니트로 나누어진 것으로 판단할 수 있다.

비변형 효소의 활성은 2,500 unit/mg인 데 반해 변형 후 크로마토그래피로 분리하여 얻은 테트라머의 활성은 1769 unit/mg, 모노머의 활성은 1,436 unit/mg을 나타냈다<sup>(19)</sup>. 이같이 활성이 낮아진 것은 변형으로 당이 활성부위 근처에 결합하였거나 변형시의 조건에 변성된 것으로 볼 수 있으나, 전보<sup>(18)</sup>에서 변형시의 조건 때문으로 밝힌 바 있다.

#### 고구마 $\beta$ -아밀라아제에 결합한 당

Fig. 3은 산화가용성 전분으로 변형한 고구마  $\beta$ -아밀라아제와 변형하지 않은 고구마  $\beta$ -아밀라아제를 폴

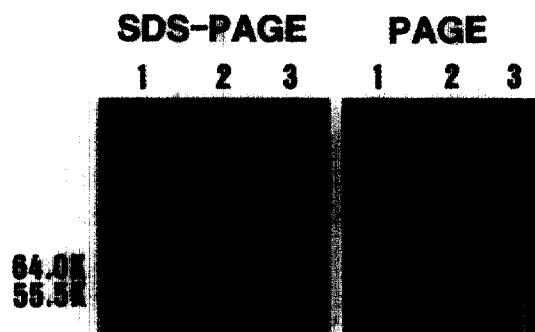


Fig. 3. SDS PAGE and ordinary PAGE of sweet potato  $\beta$ -amylase modified with oxidized soluble starch. SDS-Treatment of the modified enzyme was done in the presence of 1% SDS at 100°C for 2 min and 30  $\mu\text{g}/\text{column}$  of the sample was applied. The electrophoresis was performed at pH 8.8 and 4 mA of electric current using acrylamide gel of 7.5% concentration. 1, Native enzyme, stained with CBB; 2, modified enzyme, stained with CBB; 3, modified enzyme, stained with PAS

리아크릴아미드 겔 전기영동하여 단백질과 당을 염색하여 비교한 것이다. 고구마  $\beta$ -아밀라아제는 단백질(1)만으로 이루어져 있으나 변형한 뒤에는 단백질 밴드(2)와 같은 위치에서 당염색 밴드(3)가 나타나므로 당의 부가가 확인된다. PAGE의 2는 변형으로 고구마  $\beta$ -아밀라아제가 원래의 테트라머(가장 느린 것), 다이머(중간 이동) 및 모노머(가장 빠른 것)로 나누어진 것을 나타내고 있다. 3의 단백질 염색 뒤에 나타나는 진한 당 밴드는 환원되지 않은 산화당의 밴드로, 산화당의 CHO기는 전하를 띠기 때문에 전기영동에서 이동된다. SDS-PAGE로 비변형 효소는 55,500, 변형 효소는 64,000의 분자량을 나타냈다. 이것은 당이 부가된 만큼 분자량이 증가한 결과이다(Fig. 3).

#### 여러 효소단백질에 대한 당의 결합

Carboxypeptidase는 Fig. 4와 같이 일부만 당단백질(2)이지만 산화 가용성 전분과 반응시키면 이동도가 달라지고(3), 전체 단백질이 모두 당염색(4)되어 변형된 것으로 나타났다(Fig. 4).

Bovine serum albumin, aldolase, ferritin, pronase, catalase, 밀  $\beta$ -아밀라아제를 각각 산화 가용성 전분과 반응시켜 전기영동한 결과 Fig. 5와 같이 모두 당단백질 염색되었다. 부가되는 당의 함량이 단백질 양보다

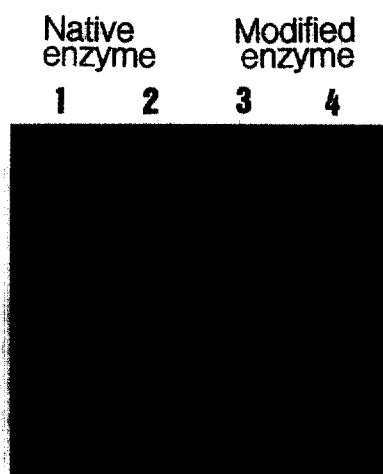


Fig. 4. PAGE of carboxypeptidase modified with oxidized soluble starch. Fifty  $\mu\text{L}$  of carboxypeptidase solution (1 mg/ml) was added to 50  $\mu\text{L}$  of oxidized soluble starch solution (20 mg/ml) in 0.25 M K-phosphate buffer (pH 8.0) and incubated at 37°C for 10 min. and 30  $\mu\text{g}/\text{column}$  of the sample was applied. The electrophoresis was performed at pH 8.8 and 4 mA of electric current using acrylamide gel of 7.5% concentration. 1, Native enzyme, stained with CBB; 2, native enzyme, stained with PAS; 3, modified enzyme, stained with CBB; 4, modified enzyme, stained with PAS

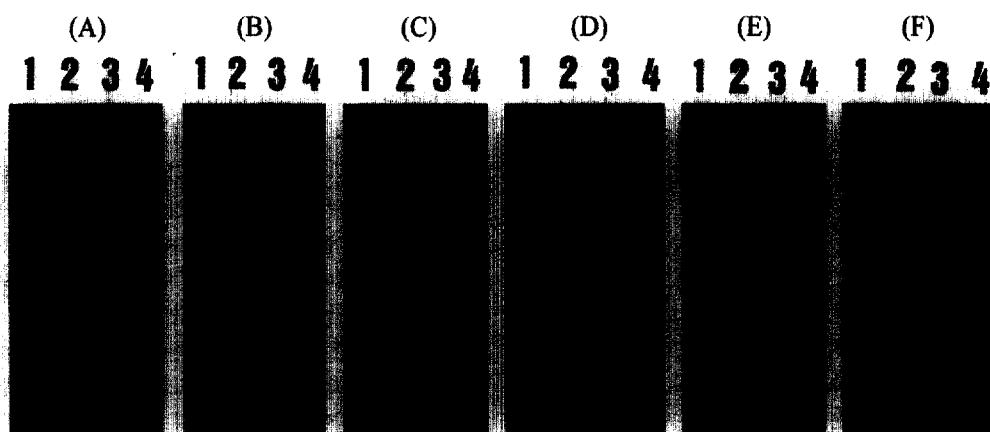


Fig. 5. PAGE of various proteins modified with oxidized soluble starch. A, Bovine serum albumin; B, aldolase; C, ferritin; D, pronase; E, catalase; F, wheat  $\beta$ -amylase. 1 and 3, stained with CBB; 2 and 4, stained with PAS

적고, 일반적으로 당염색 강도는 단백질 염색 강도보다 약하기 때문에 이 자료만으로 판단하기 어려운 부분도 있으나 당이 부가되면 전하가 변하여 단백질의 이동도가 달라지므로 단백질 랜드의 모습만으로도 판단할 수 있다(Fig. 5).

당의 부가로 ferritin (C) 외에는 단백질의 이동도가 모두 달라졌다. Ferritin은 뚜렷한 PAS 염색 랜드(C-3)를 보이고 있다. 이 결과는 bovine serum albumin, aldolase, ferritin, pronase, catalase, 밀  $\beta$ -amylase 모두 분자 표면에 NH<sub>2</sub>기를 갖고 있고, 산화전분의 알데히드기가 NH<sub>2</sub>기와 Schiff 염기 반응으로 결합한 것을 의미한다.

이들 결과는 본연구결과에서 조제한 NaIO<sub>4</sub>-산화당이 대부분의 단백질과 공유결합하여 인공당단백질을 만들 수 있는 것을 나타내고 있다.

#### 변형 고구마 $\beta$ -아밀라아제의 UV 흡광곡선

Fig. 6은 고구마  $\beta$ -아밀라아제의 UV 흡광곡선으로, 변형시킨 효소와 변형시키지 않은 효소 사이에 차이는 나타나지 않았다. 이것은 변형으로 효소의 방향족 아미노산에 변화가 생기지 않고, 결합된 산화당의 알데히드기가 모두 환원된 것을 의미한다. 알데히드기는 자외선 영역에서 흡수하지만 NaBH<sub>4</sub>에 의해 환원되면 자외 흡수력을 잃기 때문이다(Fig. 6).

#### 고 칠

전보<sup>(7)</sup>에서는 고구마  $\beta$ -아밀라아제를 산화가용성 전분과 산화말토헥사오스로 변형 시켜서 크로마토그래피와 HPLC로 서브유니트 구조를 밝혔고, 본결과에서

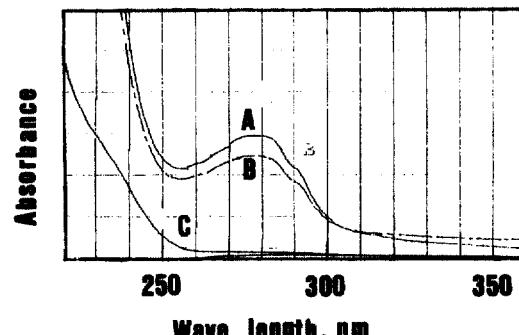


Fig. 6. UV spectra of sweet potato  $\beta$ -amylase modified with oxidized soluble starch. A, Original enzyme; B, modified enzyme; C, 0.1M K-phosphate buffer.

는 이들 산화당으로 고구마  $\beta$ -아밀라아제를 비롯한 여러 단백질을 변형시켜서 당단백질을 만들어서 전기영동으로 당이 결합되었는가 분석하였다. 그 결과, 단백질의 염색랜드는 당의 PAS 염색 랜드와 일치하여 당이 결합된 것으로 나타났다. 서브유니트 구조를 가진 고구마  $\beta$ -아밀라아제는 당의 결합으로 서브유니트로 분리되었으나 다른 단백질은 그런 결과를 나타내지 않았다.

당단백질을 얻는 방법은 천연 당단백질을 분리하는 방법, 효소를 이용하여 합성하는 방법, 화학적으로 결합시키는 방법, 물리적으로 결합시키는 방법 등이 있다<sup>(17)</sup>. 천연 당단백질을 분리 조제하는 것은 정제기술과 경비 때문에 한계가 있고, 효소에 의한 합성은 해당 효소나 기질을 생산, 정제하기가 어려워 구입할 수 없거나, 물리적 방법은 결합이 불안정한 경우가 많다. 화학적 방법은 식품에 허용된 첨가물질이 아니면 사

용할 수 없고, 반응으로 단백질이 변성되는 등 제약이 많다.

그러나 본방법은 다른 시약에 비하여 싸고, 안정한 식품인 전분을 재료로 사용하여, 산화와 당단백질 조제 방법이 간단하여 중성 pH, 상온에서 10분 정도의 반응으로 당단백질을 만들 수 있고, 단백질 변성이 거의 일어나지 않는다<sup>(6,9)</sup>. 그러므로, 과요드산 산화당은 효소와 단백질의 안정성, 점성, 유화성, 용해성, 방부 성 등을 향상시키기 위한 당단백질 조제에 사용할 수 있을 것이다.

그러나, 결합되는 당은 고리가 열려서 알데히드기가 생긴 다음 환원되어 당알콜로 된 것이기 때문에 천연 당이 아니다. 그래서 식품단백질에 결합한 당은  $\alpha$ -1,4-글루칸과 구조가 달라져서 아밀라아제가 가수분해하지 못한다. 그리고, 당결합 양이 많으면 단백질의 펩티드 결합에도 단백질 가수분해효소가 작용하기 힘들어서 소화성이 떨어지게 된다. 그러나 이 성질을 거꾸로 이용하여 다이어트 식품의 개발이나, 식물섬유로서 이용할 수 있을 것이다. 효소가 작용하기 힘들다는 것은 부폐하기 힘들다는 것을 의미하므로 방부제를 사용하지 않고도 화장품의 물성화제로 사용할 수도 있을 것이다.

앞으로, 이 방법으로 만든 당단백질 효소와 식품 당단백질의 기능과 물성을 분석하여 바람직한 면을 찾아 내는 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각한다.

## 요 약

과요드산 산화 가용성전분 및 말토올리고당을 고구마  $\beta$ -amylase, 밀  $\beta$ -amylase, aldolase, bovine serum albumin, catalase, carboxypeptidase, ferritin, pronase와 반응시켜서 전기영동하였다. 이들 단백질은 전기영동상의 이동도가 달라지고, 단백질 벤드와 같은 위치에서 PAS 염색 벤드를 나타내어 당이 부가된 것으로 확인되었다. 당의 부가는 과요드산 산화당의 알데히드기가 단백질 분자 표면 리신의  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>기와 Schiff 염기를 형성하여 일어난다. 변형효소는 자외흡광곡선에 변화를 나타내지 않았다.

## 문 헌

1. Seiichi, H.: Glycoproteins (in Japanese), *Bioindustry*, 3,

- 2-4 (1991)
2. Sharon, N.: Glycoproteins (in Japanese). In *Complex Carbohydrates*, Addison-Wesley Publish Co. Inc., Mass., p. 19-27 (1975)
3. Sharon, N.: Function of sugar. In *Complex Carbohydrates*, Addison-Wesley Publish Co. Inc., Mass., p. 109-130 (1975)
4. Association of Kinki Bioindustry: Technics of complex carbohydrate by the ministry of international trade and industry (in Japanese). *Bioindustry*, 3, 5-6 (1991)
5. Ann, Y.G.: Studies on sweet potato  $\beta$ -amylase. *Ph. D. Thesis*, Osaka City Univ., Japan (1989)
6. Ann, Y.G., Iizuka, M., Yamamoto, T. and Minamiura, N.: Evidence for existence of an active monomer of sweet potato  $\beta$ -amylase. *Agric. Biol. Chem.*, 53, 3109-3110 (1989)
7. Ann, Y.G., Iizuka, M., Yamamoto, T. and Minamiura, N.: Preparation and some properties of active monomer of sweet potato  $\beta$ -amylase. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 769-774 (1990)
8. Ann, Y.G., Iizuka, M., Yamamoto, T. and Minamiura, N.: Active monomer of sweet potato  $\beta$ -amylase; stabilization and an improved preparation method using  $\alpha$ -cyclodextrin. *J. Ferment. Bioeng.*, 70, 75-79 (1990)
9. Minamiura, N., Ann, Y.G., Iizuka, M., Ito, K. and Yamamoto, T.: Preparation of an active monomer from sweet potato tetrameric  $\beta$ -amylase in the presence of  $\alpha$ -cyclodextrin. *Denpun Kakaku*, 38, 153-157 (1991)
10. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356 (1956)
11. Nelson N.: A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153, 375-380 (1944)
12. Davis, B.J.: Disc electrophoresis II, Method and application to human serum albumin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404-427 (1969)
13. Zacharius, R.M., Zell, T.E., Morrison, J.H. and Woodlock, J.J.: Glycoprotein staining following electrophoresis on acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 30, 148-152 (1969)
14. Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 222, 680-685 (1970)
15. Matsudaira, P.T. and Burgess, D.R.: SDS-Microslab linear gradient polyacrylamide gel electrophoresis, *Anal. Biochem.*, 87, 386-396 (1978)
16. Iizuka, M.: Studies on *Candida utilis* invertase (in Japanese). *Ph. D. thesis*, Osaka City Univ., Japan (1979)
17. Sharon, N.: Biosynthesis of glycoprotein. In *Complex Carbohydrates*, Addison-Wesley Publish Co. Inc., Mass., p. 73-86 (1975)

(1998년 7월 27일 접수)